ANNALES DE ZOOLOGIE ÉCOLOGIE ANIMALE

VOLUME 2 1970 NUMÉRO 2
TRIMESTRIEL

ECOLE NATIONALE SUPÉRIEURE AGRONOMIQUE
Chaire d'Agriculture
GRIGNON

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

AZEA2.2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, PARIS-VII^e^. Tél. : INV. 41-09.

Directeur général : J. BUSTARRET

Inspecteurs généraux : A. CAUDERON, G. DROUINEAU, R. FÉVRIER, P. MORNET, R. PÉRO.

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : J. BUSTARRET

Annales agronomiques.

— M. HALLAIRE, Chef du Département de Bioclimatologie.
— S. HÉNIN, Chef du Département d'Agronomie.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

— R. MAYER, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes.

Annales de Phytopathologie.

— H. DARPOUX, Chef du Département de Pathologie végétale.

Annales de Zoologie - Écologie animale.

— E. BILIOTTI, Chef du Département de Zoologie.

Annales de Zootechnie.

— R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
— A.-M. LEROY, Professeur honoraire à l'Institut national agronomique.
— A. RÉRAT, Directeur de la Station de Recherches sur l'Élevage des Porcs, C. N. R. Z.

Annales de Technologie agricole.

— P. DUPUY, Directeur de la Station de Technologie des Produits végétaux, Centre de Recherches de Dijon, 7, rue Sully.
— A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés, C. E. R. D. I. A., Le Noyer-Lambert, 91 - Massy.
— G. MOCQUOT, Chef du Département de Technologie des Produits animaux.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

— A. FRANÇOIS, Chef du Département de Recherches de Nutrition.
— C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.

Annales des Sciences forestières.

— P. BOUVAREL, Directeur de la Station d'Amélioration des Arbres forestiers, C. N. R. F.
— J.-P. CHESNEAU, École nationale du Génie rural, des Eaux et des Forêts, 54 - Nancy.
— J. PARDÉ, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C. N. R. F.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

— J. POLY, Chef du Département de Génétique animale.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I. N. R. A.-Deutscher Imkerbund).

— J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91 - Bures-sur-Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

— P. MORNET, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Annales d'Hydrobiologie.

— R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
— C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.
— R. VIBERT, Directeur de la Station d'Hydrobiologie continentale, 64 - Biarritz.

Recherches d'Économie et de Sociologie rurales.

— D. BERGMANN, Chef du Département d'Économie et de Sociologie rurales.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION :

Service des Publications de l'I. N. R. A., route de Saint-Cyr, 78 - VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

ANNALES DE ZOOLOGIE-ECOLOGIE ANIMALE

VOL. 2 N°. 2 1970

Nom de l'emprunteur	Emprunté le	remis le

ANNALES
DE
ZOOLOGIE
ÉCOLOGIE ANIMALE

VOLUME 2 1970 NUMÉRO 2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle, PARIS-7e

Ann. Zool. Écol. anim., 1970, **2** (2), 163-200.

INFLUENCE DIRECTE DE QUELQUES FACTEURS ÉCOLOGIQUES SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE ET LA DISTRIBUTION DES ESPÈCES FRANÇAISES DE LA FAMILLE DES *LONGIDORIDAE* (*NEMATODA — DORYLAIMIDA*)

A. DALMASSO

Station de Recherches sur les Nématodes,
Centre de Recherches d'Antibes
Institut national de la Recherche agronomique

RÉSUMÉ

La dynamique des populations des *Xiphinema* et des *Longidorus* est analysée à partir d'observations réalisées sur *X. mediterraneum*. La vitesse du développement est très variable et la physionomie des populations en est fortement influencée. Par contre, la reproduction, qui a lieu souvent pendant une période restreinte, marque peu les populations ; l'ovogenèse, comme la mue, n'interviennent qu'en conditions très strictes. Chez *X. mediterraneum*, on constate une cessation complète du développement, de l'ovogenèse et de l'activité motrice pendant la période sèche de l'été. La quiescence est levée par un retour du sol à une hygrométrie normale.

Les *Longidoridae* sont sérieusement limités dans leur expansion par les variations climatiques. Prisonnières de leurs milieux, en raison de leurs faibles moyens de propagation, beaucoup d'espèces européennes ont pu être coupées de leur optimum et se maintiendraient, tant bien que mal, dans les zones actuellement occupées. Cet éloignement du préférendum peut être parfois simplement spatial, mais il a pu aussi se produire progressivement dans le temps et la dynamique actuelle traduirait les difficultés d'adaptation de ces nématodes face à l'évolution des climats.

Enfin, les relations hôtes-nématodes sont étudiées et les aires de répartition des diverses espèces décrites et interprétées.

I. — ÉTUDE DE LA DYNAMIQUE D'UNE POPULATION DE « XIPHINEMA MEDITERRANEUM »

Le métabolisme des *Xiphinema* et des *Longidorus* est nettement conditionné par le climat qui règne dans le sol. La sensibilité au milieu de ces nématodes est telle que les moindres variations de température se répercutent instantanément sur

leur mobilité et aussi, de façon moins perceptible, sur leur activité générale. Dans cet ordre d'idée, le cycle de *X. index*, qui est approximativement de un mois et demi à deux mois, à 20°C, en serre, peut atteindre une année et plus dans la nature. Ainsi, la biologie des *Longidoridae* se caractérise par un ralentissement général du développement dès que les conditions ne sont plus optimales ; par suite, leur localisation se limite à des cultures pérennes ou à des peuplements végétaux permanents, permettant à ces nématodes une évolution complète et ayant, en même temps, l'avantage de ne pas être soumis à des façons culturales fréquentes.

Nous avons pu montrer que cet allongement du cycle est un phénomène courant dans nos régions et qu'il entraîne la présence de chacun des stades pendant toute l'année. Seule la phase « œuf » est absente pendant une longue période. Une population de *X. mediterraneum*, installée sur une vigne de 15 ans à Cros-de-Cagnes, dans les Alpes-Maritimes, a été suivie, dans ce but, de 1963 à 1966. Ce nématode est très commun dans la moitié sud de la France. Le biotope choisi est assez central dans l'aire de cette espèce ; on connaît, en effet, des localités plus septentrionales (Angleterre, Champagne, bassin de la Loire,...) et d'autres situées en climats semi-désertiques (Afrique du Nord,...), où le comportement pourrait être assez sensiblement différent. Les observations recueillies donnent ainsi un aperçu moyen sur les aptitudes de *X. mediterraneum*.

Conditions climatiques : en 1963 et 1964, la température enregistrée quotidiennement à la profondeur des prélèvements, c'est-à-dire à 25 cm, est descendue à 5°C, en janvier (le sol n'a jamais gelé au niveau étudié) et s'est élevée à 33°C dans la première quinzaine d'août. L'humidité du sol, évaluée en poids d'eau pour 100 g de terre sèche, était souvent proche de la saturation en hiver avec 16,4 p. 100. Dès le début du mois d'avril, une croûte sèche (5 p. 100) se forme entre 0-10 cm, alors qu'une bonne humidité continue à régner en profondeur. Peu à peu, la carapace superficielle gagne en profondeur. Cette descente est interrompue de temps à autre par quelques pluies. De juin à août, les averses sont de plus en plus rares et leur effet est bref. De la fin avril à la mi-septembre, c'est-à-dire dans la période qualifiée de sèche par les climatogrammes régionaux, le sol est très dur et les prélèvements doivent être réalisés à la pioche. L'année 1964 s'est révélée un peu plus sèche que 1965.

Conditions culturales : la parcelle étudiée couvre environ 3 000 m², elle est complantée en vignes et pêchers de variétés multiples et mal définies. On trouve aussi diverses plantes spontanées avec une prédominance de Cypéracées. Les façons culturales, réduites à l'extrême, ne perturbent guère les observations. Imparfaite sur le plan agronomique, cette parcelle permet à l'observateur une grande liberté d'investigation. Le système radiculaire des vignes atteint le maximum de développement entre 20 et 30 cm de profondeur. C'est également à ce niveau que l'on enregistre la plus forte densité de *Xiphinema*.

Les échantillons sont prélevés à des intervalles de 15 jours, autour de 20 points répartis régulièrement dans la parcelle. Le genre *Xiphinema* n'y est représenté que par *X. mediterraneum*, ce qui facilite les dénombrements. A chaque observation, c'est-à-dire deux fois par mois, 200 individus capturés au hasard sont montés, car l'identification précise des stades est réalisée par la mensuration des odontostyles au microscope.

La population étudiée peut être considérée comme étant en équilibre puisqu'elle est installée depuis plus de 15 ans sous la couverture végétale décrite.

1. *Durée des différents stades et longévité de l'espèce* (1)

La figure 1 représente les proportions globales annuelles et saisonnières enregistrées pour chaque stade en 1964. On remarque que les stades les plus âgés sont les

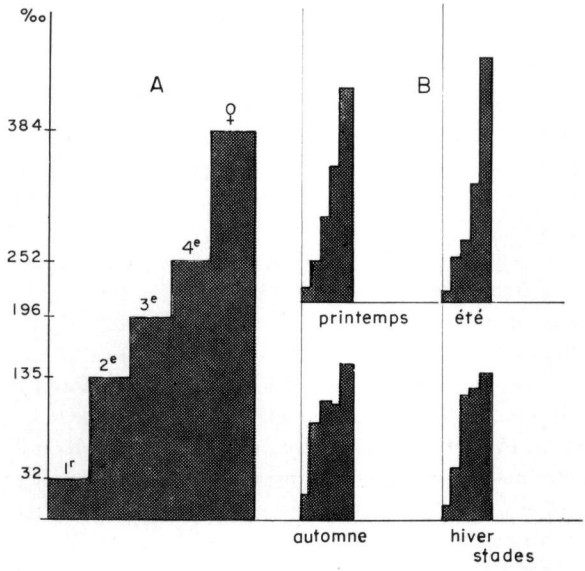


FIG. 1. — *Étude d'une population de* X. mediterraneum *située à Cagnes-sur-Mer*
A. Répartition globale annuelle rassemblant 24 séries de 20 prélèvements réalisés dans le courant de 1964. Soit 4 800 individus capturés au hasard par lots de 200 à intervalle de 15 jours.
B. Composantes saisonnières.

plus abondants et que cette physionomie se maintient pratiquement pendant toute l'année de façon plus ou moins accentuée. Ceci ne fait que confirmer un phénomène déjà entrevu sur d'autres populations récoltées dans divers vignobles méridionaux. Il ne peut s'agir d'une mortalité spécifique de jeunes, car la répartition de la population entre les stades se maintient plus ou moins et les périodes de reproduction successives ne parviennent pas à combler les écarts. On doit donc penser qu'il existe des différences nettes dans la longévité de chaque stade. On peut alors estimer, en partant de la représentation globale pour une année, la durée relative de chacun des stades. Ainsi, pour cette population, la longévité *moyenne* du second stade serait 4,2 fois supérieure à celle du premier, alors que celle du troisième le serait de 6,1 fois, celle du quatrième de 7,8 fois et celle de la femelle adulte de 12 fois (rappelons ici qu'il s'agit d'une espèce parthénogénétique chez laquelle les mâles sont très rares, de l'ordre de 1 à 2 p. 1 000). En fait, ces chiffres sont très approximatifs et inférieurs à la réalité, puisqu'ils supposent qu'aucune mortalité n'intervient avant le stade adulte, ce qui n'est évidemment pas le cas. On peut, sous cette réserve, représenter de façon schématique, la durée moyenne relative des différents stades (voir fig. 2).

Dans ce biotope où *X. mediterraneum* se reproduit du début avril à la mi-juillet,

(1) N. B. : Ces résultats, non publiés, ont été présentée au VIIIe Symp. Intern. de Nématologie, Antibes, 1965.

il n'y a, pour expliquer la présence pendant toute l'année de larves des premier et deuxième stades, que deux possibilités ; soit attribuer à celles-ci une durée qui pourrait être supérieure à une année, soit envisager une éclosion d'œufs échelonnée sur

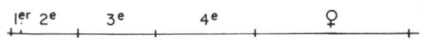


FIG. 2. — *Schéma de la durée relative des différents stades en conditions naturelles pour la population étudiée*

un an. Comme on ne trouve pas d'œufs en automne et en hiver, il faut accepter la première hypothèse. Ainsi, en dépit d'une longévité moyenne moindre, certains stades, I ou II, peuvent durer, selon les circonstances, plus de temps que les adultes ou que les autres stades. Les *Xiphinema* et les *Longidorus* ne tiennent donc pas leur longévité d'un stade déterminé.

Dans une même population, la vie d'un certain nombre d'individus se déroule essentiellement sous forme de stades I et II, alors que pour d'autres le ralentissement dans le développement interviendra à d'autres stades. Il en résulte aussi que les individus récoltés sont souvent âgés d'une année ou même davantage. On retiendra que, si chaque stade possède une durée théorique propre, celle-ci n'est pas la durée réelle qui lui est imposée par les conditions externes. Les variations dans la longévité des diverses étapes du cycle traduisent, en partie, l'influence du milieu sur les stades biologiques, de sorte que, pour une même espèce, on pourra avoir des histogrammes différents d'un biotope à l'autre. L'abondance de jeunes ne doit pas être interprétée ici obligatoirement comme un signe d'expansion ; elle peut tout simplement traduire un arrêt prolongé du développement à un âge précoce, en fonction de conditions locales. Il serait intéressant de connaître les caractéristiques de durée propre à chaque stade en conditions contrôlées pour diverses espèces de *Longidorus* et de *Xiphinema*, ce qui permettrait alors de comparer les développements entre eux.

Sur le plan pratique, la longueur du cycle permet d'expliquer pourquoi les cultures annuelles échappent aux attaques de ces nématodes, sauf dans les zones particulièrement favorables où un développement rapide leur est assuré.

La figure 1 B représente les répartitions saisonnières des stades, on remarque pendant la période de reproduction qui s'étend du début avril à la mi-juillet, une nette augmentation du nombre de femelles dans le sol. Le nombre de premiers stades varie peu ; on peut penser que la ponte est peu importante ou, ce qui est plus probable, que les stades I évoluent rapidement en stades II et III.

Les travaux concernant la dynamique des populations de *Xiphinema* et de *Longidorus* sont rares et on manque encore de comparaisons. Quoi qu'il en soit, ces résultats diffèrent fondamentalement de ceux qui ont été rapportés aux U. S. A. par C. NORTON, en 1963, puis par GRIFFIN et DARLING, en 1964, étudiant des populations de *X. americanum* (*sensu lato*), établies sur luzerne dans l'Iowa et sur pépinière de conifères dans le Wisconsin. Ces auteurs ont observé deux maximums saisonniers de pullulation et deux périodes de reproduction. Ils indiquent que les femelles disparaissent en hiver, alors que les œufs subsisteraient, permettant à l'espèce de franchir cette période défavorable. Nous n'avons rien trouvé de semblable avec *X. mediterraneum* qui est pourtant une espèce très voisine. Par contre, les données publiées par FLEGG, en 1966 et 1968, sur *X. vuittenezi* concordent, bien que celui-ci soit taxonomiquement parlant assez éloigné. Il semble d'ailleurs que la plupart des espèces

de *Longidorus* et *Xiphinema* que l'on rencontre en Europe, suivent des règles biologiques analogues, à savoir : une seule période de reproduction plus ou moins étendue, la persistance de tous les stades en toutes saisons, l'évolution rapide des œufs après la ponte, l'absence de périodes de pullulation plus intense dans le cours de l'année. Ceci a été récemment confirmé en Israël par COHN (1969).

La figure 3 traduit le relevé quantitatif sur une année ; le creux enregistré en été est vraisemblablement la conséquence des difficultés rencontrées lors du prélève-

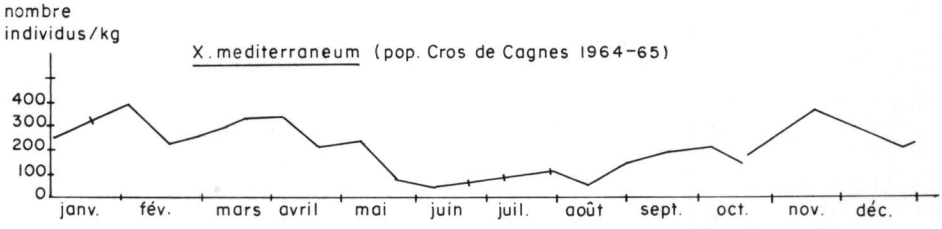


FIG. 3. — *Évolution quantitative de la population*

ment des échantillons. A cette époque la sécheresse entraîne la formation d'une carapace très dure, le sol s'effrite et se pulvérise finement sous les instruments entraînant la destruction d'une grande partie de la faune.

Les conditions saisonnières et géographiques mises à part, la physionomie d'une population dépend aussi des différences microclimatiques en relation avec la profondeur du sol. C'est ainsi que quelques auteurs ont signalé un accroissement du nombre d'adultes avec la profondeur (cf. COHN, 1969). *X. mediterraneum* a pu être retrouvé jusqu'à 1,5 m ; il est évident qu'à un tel niveau son comportement risque d'être assez particulier. Toutefois, les difficultés techniques d'observation à cette profondeur n'y permettent pas un travail suivi.

Au cours des investigations, il est apparu aussi que, dans un biotope donné, la population doit se décomposer en individus actifs, se développant assez vite, et en individus évoluant beaucoup plus lentement. Cet état peut résulter de dégradations locales des radicelles privant le nématode de nourriture ou de bouleversements topographiques apportés par les procédés culturaux. La physionomie de la population dans les nids de pullulations où les conditions sont satisfaisantes, doit être alors différente de celle qui existe dans le sol avoisinant. Ce phénomène, pour être vérifié, devrait laisser apparaître un pourcentage plus élevé de jeunes pour les fortes densités traduisant les lieux de ponte et la proximité de jeunes radicelles ; cela quelle que soit la période de l'année.

Nous avons prélevé, dans ce but, pendant l'hiver, 30 échantillons de 1 kg sur une distance de 1,5 m entre deux rangs de vigne et parallèlement à ceux-ci. Tous les individus ont été capturés et montés en vue d'en identifier le stade avec rigueur. Les résultats sont portés sur la figure 4. Il en ressort que le pourcentage des femelles décroît de façon significative quand la population croît de façon significative ; que le pourcentage des deuxièmes stades croît de façon significative quand la population croît de façon significative ; que les pourcentages cumulés des premier et deuxième stades croissent de façon hautement significative quand la population croît de façon hautement significative. Les femelles, les quatrième et troisième stades sont moins groupés que les premier et second stades ; mais le deuxième stade a déjà quelque

tendance à avoir une distribution du type : femelle, quatrième et troisième stades (1). Il faut remarquer que les observations ont été réalisées volontairement plusieurs mois après la période de reproduction et les résultats impliquent que ces nématodes se déplacent ordinairement très peu, puisque les groupements autour des lieux de ponte persistent.

La dynamique des populations chez les *Longidoridae* apparaît à travers cet exemple dans toute sa complexité. Les traits essentiels sont leur grande *longévité* et

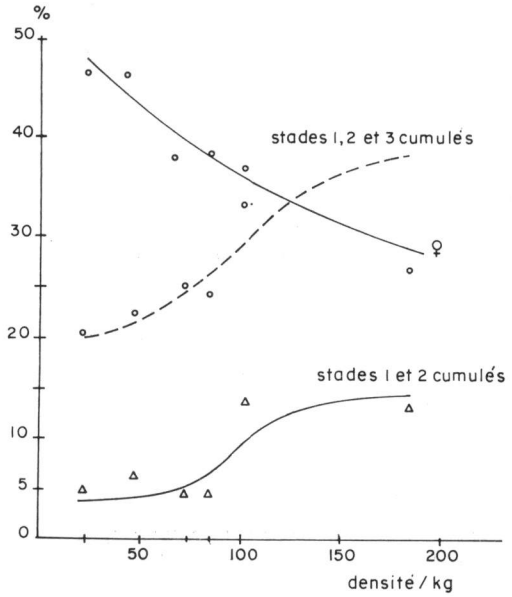


FIG. 4. — *Variations dans la distribution des stades dans le sol*

la variabilité de la durée de chaque stade. Les différences entre les données recueillies aux États-Unis et en Europe constituent un autre aspect non moins important, qui peut traduire une inadaptation des espèces peu mobiles face à une évolution climatique. En fait, cette dynamique que nous venons de considérer sous son aspect global est gouvernée par deux phénomènes que nous allons préciser ; il s'agit de l'estivation et de la reproduction.

2. *Quiescence estivale chez* Xiphinema mediterraneum

Sous le climat méditerranéen, l'été entraîne la disparition d'une partie de la faune nématologique (les migrations verticales de fuite devant la dessiccation doivent être insignifiantes et n'ont pu être prouvées de façon formelle dans la nature). Toutefois, certains nématodes parviennent à se maintenir et parmi eux *X. mediterraneum*, qui a un préférendum bien marqué pour les sols soumis à des intervalles de sécheresse. C'est une espèce qui se conserve longtemps dans les échantillons recueillis lors de ces périodes, alors qu'elle disparaît plus rapidement des terres humides prélevées pendant le reste de l'année et ceci laisse supposer qu'elle peut pratiquer une sorte d'anhy-

(1) L'interprétation des résultats a été réalisée par la Station de Biométrie de Nancy.

drobiose. La longueur du cycle s'accommode d'ailleurs bien de cette hypothèse. Mais ce phénomène est difficile à mettre en évidence, car les techniques de séparation des nématodes du sol utilisent nécessairement l'eau, ce qui entraîne la réanimation de la faune.

L'estivation peut cependant être décelée en recourant à l'examen direct et immédiat du sol sec infesté, dans l'eau. *X. mediterraneum* apparaît alors en spirale serrée et demeure inerte. Sa position est différente de celle qu'il prend lorsqu'il est mort ; il est plus enroulé et peut être même ramassé en une petite pelote, offrant ainsi une surface moindre vis-à-vis du milieu. Le contact avec l'eau le détend instantanément, mais il reste encore immobile pendant quelques minutes. On perçoit bientôt des mouvements très faibles et très lents qui n'intéressent au début que les extrémités, puis se généralisent à tout le corps. Les mouvements s'accélèrent alors et la réanimation complète, avec mouvements ondulatoires, intervient au bout d'un quart d'heure environ.

Des observations étalées dans le temps, ont montré, qu'en 1966, la population de *X. mediterraneum* de Cagnes-sur-Mer est restée quiescente du début juin à la fin août. Or, il y avait encore, au mois de juin, beaucoup de femelles gravides, ce qui semble indiquer que l'ovogenèse est arrêtée, dans le Midi, par la chute de l'hygrométrie. La quiescence a été interrompue, pendant cette période, par quelques gros orages, mais s'est réinstallée 4 à 5 jours après et même plus tôt en cas de pluies peu importantes. Les femelles encore gravides pourraient mettre à profit ces brèves réactivations pour pondre les ultimes œufs. Il y a eu aussi, à certains moments, des décalages dans l'activité entre les couches supérieures et les couches profondes, mais cela durait peu.

Nous avons essayé de situer le point de quiescence de *X. mediterraneum*, par rapport au point de flétrissement des végétaux. Pour cela, des séries d'échantillons ont été prélevés à Cagnes et soumis à une dessiccation progressive pour exposer différents lots de *Xiphinema* à un gradient d'humidité assez étalé. L'état des individus de chaque lot a été ensuite déterminé et les résultats sont donnés sur la figure 5. Il

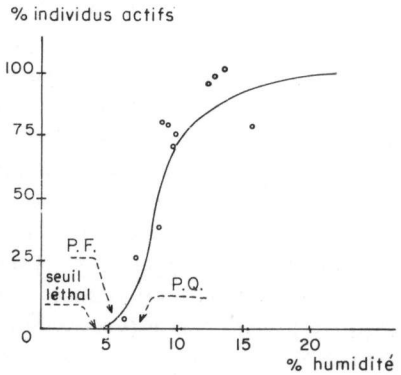


FIG. 5. — *Influence de l'hygrométrie du sol sur l'activité de* X. mediterraneum

faut noter que l'état physiologique de tous les spécimens n'est pas identique pour un échantillon donné, car l'eau n'est pas répartie, dans celui-ci, de façon uniforme, la surface ayant tendance à être plus sèche que le centre, malgré toutes les précautions

que l'on peut prendre. Pour le biotope étudié, le point de quiescence de *X. mediterraneum* se situe entre 6,5 et 7,5 g d'eau pour 100 g de terre sèche, alors que le point de flétrissement avoisine 5,9 g (méthode SACHS). Si l'hygrométrie s'abaisse exagérément dans le sol, la mortalité devient très élevée. Le nématode ne se réanime plus et on constate alors la présence de bulles d'air dans le corps, surtout dans la région œsophagienne. Le point létal pour l'espèce se situe entre 6 et 6,5 g d'eau p. 100, c'est-à-dire au-dessus du point de flétrissement des végétaux. Mais dans les conditions de l'expérience, la réhydratation est brutale ; il est possible qu'un contact plus progressif avec l'eau repousse légèrement ce seuil.

Ce point létal varie avec les espèces, ainsi, dans cette même localité, des nématodes appartenant à des genres variés : *Dorylaimus, Discolaimus, Mononchus, Helicotylenchus, Tylenchus,* etc., ont été réactivés après avoir été soumis à une dessiccation assez poussée, atteignant 3,6 g d'eau p. 100.

Néanmoins, on peut considérer que *X. mediterraneum* est bien adapté aux climats secs, il peut ainsi, placé en sol à hygrométrie ajustée, se maintenir, en l'absence de toute racine, pendant plus d'une année avant d'être réanimé. Par contre, il craint les excès d'eau prolongés et disparaît dans les milieux sursaturés.

Il est intéressant de noter que d'autres nématodes phytophages, dont certains *Helicotylenchus,* ont un comportement analogue. On les trouve ainsi, à différents stades pendant toute l'année, souvent associés à *X. mediterraneum,* et, si leur longévité paraît élevée, leur fécondité semble au contraire faible. Ainsi, une grande longévité avec un cycle de durée variable, mais normalement long, est souvent le signe d'une activité générale ralentie. Sur le plan pratique, on peut constater que les nématodes qui appartiennent à cette catégorie sont plus rarement impliqués dans des dégâts spectaculaires en plein champ, que les nématodes à cycle rapide (*Meloidogyne, Heterodera, Ditylenchus*...).

3. *La reproduction et le déterminisme de l'ovogenèse chez* X. mediterraneum

La reproduction.

Il existe chez cette espèce des femelles et des mâles, mais ces derniers sont très rares et il ne fait aucun doute que la reproduction est essentiellement de type parthénogénétique. Ainsi, c'est le fonctionnement de l'ovaire qui nous intéressera plus particulièrement ; celui-ci n'est pas continu. On constate une longue phase de repos qui s'interrompt, dans la population étudiée, de la fin mars à la mi-juillet. On trouve alors des femelles gravides et corrélativement, dans le sol, des œufs à divers stades du développement embryonnaire. Cependant, la proportion de femelles contenant des œufs demeure relativement faible durant cette période. Il est nécessaire, si l'on tient à déterminer, avec précision, la durée de la reproduction et son intensité, de décrire le processus de l'ovogenèse de l'espèce de façon précise. On peut saisir directement, sans coloration spéciale, et avec assez d'exactitude, les changements qui traduisent les différentes phases de l'activité ovarienne, sans recourir aux techniques de coloration spéciales dérivées des travaux de V. NIGON (1949).

Au repos, la gonade femelle de *X. mediterraneum* est pratiquement vide, seules sont présentes à l'apex de l'ovaire une vingtaine de gonies, ou même moins. Parfois, et notamment après la période de reproduction, on remarque 1 à 3 ovocytes de petite

taille bien espacés et noyés entre les feuillets ovariens très épais chez cette espèce. Ces cellules n'ont probablement aucun avenir et doivent dégénérer progressivement. Lorsque l'activité ovarienne est à son début, on remarque une élévation du nombre des ovocytes dans le canal ovarien. Ceux-ci commencent à s'empiler les uns sur les autres. Les ovocytes de tête qui, jusque-là, avaient un cytoplasme hyalin, commencent à devenir finement granuleux. Ce sont là les premiers signes de la reprise de l'ovogenèse. La phase de croissance des ovocytes s'accentuant, on assiste à un allongement considérable du cul-de-sac de l'ovaire, où se trouve alors logé un ovocyte à cytoplasme granuleux et dont le noyau, après examen cytologique, apparaît être en prédiacinèse (cf. DALMASSO et YOUNES, 1969). A un stade plus avancé, on trouve un ovocyte situé dans la poche de l'oviducte, qui est en diacinèse et même parfois déjà en début d'anaphase. La maturité définitive est atteinte quand l'utérus contient des ovocytes plus clairs prêts à être pondus. Ces « œufs » sont en anaphase de la première division de maturation ; on n'en compte jamais plus de deux à la fois chez la même femelle et dans ce cas, il y en a un par gonade.

La proportion de femelles présentant tel ou tel aspect varie selon le moment de l'observation : lorsque la ponte est à son maximum, les individus ayant les ovocytes prédiacinétiques et diacénitiques sont nombreux ; à la fin de cette période, par contre, on trouve surtout des ovocytes ayant terminé leur maturation. Il existe toujours, même en pleine période de reproduction, une proportion assez élevée de femelles ne montrant pas de signes d'activité ovarienne. La figure 6 donne le pourcentage de femelles en reproduction, pendant l'année 1966, à Cagnes. Il n'y a pas de reprise à

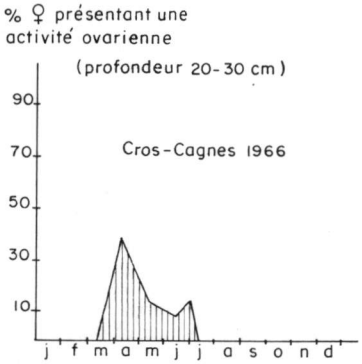


FIG. 6. — *Courbe traduisant le pourcentage de femelles présentant une activité ovarienne au cours de l'année*

l'automne, alors que la sécheresse n'est plus un obstacle et que la température est redevenue équivalente pendant un certain temps à celle qui règne au printemps, ce qui semble indiquer que les facteurs climatiques ne sont pas les seuls en cause.

Le déterminisme de l'ovogenèse.

L'ovogenèse ne peut s'établir et avoir une intensité soutenue qu'avec la conjonction d'un certain nombre de conditions précises. Chez les *Longidoridae*, celles-ci sont très strictes. Ainsi, les basses températures entravent nettement l'activité ovarienne quelle que soit l'espèce. Des écarts saisonniers, de quelques degrés seulement, provoquent des décalages dans la période de reproduction, réduisent celle-ci dans des

proportions non négligeables et parfois même la suppriment certaines années dans les localités peu favorisées. Il est probable que la rareté ou l'absence locale d'une espèce dépend souvent, moins de la rigueur hivernale, que de l'insuffisance de la température estivale. Beaucoup de *Xiphinema* de nos régions, *X. index*, *X. diversicaudatum* et *X. mediterraneum*, ont leur multiplication favorisée autour de 20°C, mais on ignore quelle est l'influence de l'amplitude et de la durée des oscillations thermiques quotidiennes. Dans le biotope de Cagnes-sur-Mer, les ovaires sont sortis de leur léthargie, alors que la température variait entre 12° et 18°C (à 25 cm de profondeur) ; en fin de reproduction (juin-juillet), ces variations étaient de 26 à 32°C. Mais par la suite la température ne s'est guère modifiée et le blocage de l'ovogenèse qui a succédé a pu avoir davantage pour cause la chute de l'hygrométrie du sol. GRIFFIN et DARLING (1964) font état, pour *X. americanum*, de deux périodes de reproduction ; d'avril à août et de septembre à janvier. Selon ces auteurs, il est difficile d'établir le ou les facteurs responsables de la disparition des femelles gravides, mais on peut noter d'après leurs relevés, que la période de sécheresse s'étend précisément d'août à septembre, au moment où l'on assiste à la disparition de celles-ci. La période de reproduction subit des décalages sensibles d'une année à l'autre et aussi selon les localités. Ainsi, à Valras (Hérault), elle se prolonge, chez *X. mediterraneum*, jusqu'au mois d'août, alors qu'elle est déjà terminée à Cagnes-sur-Mer (dans les deux cas, il s'agit de vignobles). L'absence, dans nos régions, d'activité reproductrice à l'automne est encore inexpliquée. Toutefois, l'hôte qui, par la qualité de la nourriture apportée, tient une place importante dans le déclenchement de l'ovogenèse, pourrait en constituer la raison essentielle : les *Xiphinema* comme beaucoup d'autres phytoparasites, puisent de préférence leur alimentation sur les jeunes radicelles, or, celles-ci sont émises principalement au printemps, au moment où l'ovogenèse de *X. mediterraneum* reprend son rythme normal. Pour saisir l'influence du facteur nutritionnel sur la reproduction du nématode, nous avons isolé, à Cagnes-sur-Mer, pendant l'hiver 1966, 5 zones de la parcelle étudiée à l'aide de cylindres en matière plastique de 40 cm de diamètre et 50 cm de profondeur. Toutes les racines se dirigeant vers l'intérieur des tubes ont été ainsi sectionnées et sont demeurées sans contact avec la plante mère, tout en survivant, comme cela est de règle chez la vigne durant une période assez longue. En mai 1966, en pleine reproduction, on a pu constater qu'il y avait hors de ces cylindres 14,5 p. 100 de femelles présentant des signes d'activité ovarienne, alors qu'il n'y en avait aucune à l'intérieur de ceux-ci. Cette différence montre que, seules les femelles qui ont bénéficié de l'émission de nouvelles radicelles, sont capables de se multiplier, alors que celles situées dans les cylindres isoloirs n'ont pu évoluer. L'introduction des cylindres a légèrement perturbé le microclimat dans la zone avoisinante, mais les écarts, qui ont intéressé surtout l'hygrométrie, sont restés dans les limites qui permettent la reproduction. Mises à part les conditions climatiques et trophiques, la reproduction peut aussi être liée à des facteurs intrinsèques. On sait, par exemple, que le blocage de l'ovogenèse ne s'effectue pas au même stade du développement de l'ovocyte chez les groupes *X. americanum* et *X. index*, bien que l'écart soit minime, il témoigne de caractères biologiques propres qui ont certainement leur importance dont il faut tenir compte.

4. *Discussion générale sur la structure des populations et le déterminisme de l'ovogenèse chez les* Longidoridae

Cette étude dégage un certain nombre de traits généraux sur la biologie de *X. mediterraneum* qui semblent valables pour les espèces et les genres voisins (*Longidorus* et *Paralongidorus*). Dans l'ensemble, les populations de ces nématodes sont relativement faibles, sous nos climats, comparées à celles d'autres phytophages. Aucune pullulation saisonnière n'est enregistrée et il n'y a pas de disparition de stades au cours de l'année, ce qui constitue, par rapport aux résultats enregistrés aux U. S. A., des différences assez surprenantes qui n'ont pas encore reçu d'explications certaines. Dans nos régions tempérées et méditerranéennes, en présence d'un hôte convenable, la population s'accroît très lentement. L'ensemble des stades biologiques, depuis la jeune larve jusqu'à l'adulte femelle ou mâle, se maintient tout au long de l'année. Il apparaît que la physionomie des populations de *Xiphinema* et de *Longidorus* dépend évidemment de leur ancienneté, de la saison où prend place l'observation, mais aussi des caractéristiques climatiques et trophiques du biotope. L'équilibre interstade change ainsi, pour une espèce donnée, d'une localité à l'autre. Il est, la plupart du temps, très éloigné de l'équilibre idéal que l'espèce pourrait atteindre si les conditions optimales étaient réunies. En effet, les individus qui composent la population ne se développent pas avec la même rapidité ; ceux qui sont situés dans des zones climatiquement et trophiquement favorables ont un cycle court, les autres, bien que souvent peu distants des précédents, ont une activité biologique étalée. Ainsi, l'écart entre l'équilibre interstade local, El, et l'équilibre optimal, Eo, de la population, indique si l'espèce est implantée dans un biotope favorable ou si au contraire elle se maintient en réduisant son métabolisme pendant les périodes hostiles et en allongeant ainsi la durée moyenne du cycle. Plus El, est voisin de Eo, plus l'espèce sera solidement implantée dans la région étudiée.

Par ailleurs, l'action des facteurs climatiques est soulignée par le phénomène d'estivation de *X. mediterraneum* que nous avons mis en évidence pour cette espèce et qui n'était pas connue chez ces nématodes. Cette aptitude doit être répandue chez les nématodes qui n'ont pas de formes particulières de résistance. Elle facilite le maintien et la dissémination des espèces et il n'est pas impossible que, sous les climats méditerranéens, d'autres *Xiphinema* réagissent de la même façon à la sécheresse. L'observation continue de la population de *X. mediterraneum* de Cagnes-sur-Mer, a montré que, pendant la reproduction, le pourcentage de femelles ayant une ovogenèse active peut demeurer relativement faible. Il doit l'être même davantage dans des biotopes moins propices. Selon l'année, la région, la structure du sol, la profondeur, l'hôte, la période de reproduction est longue ou brève et intéresse une fraction plus ou moins importante de la population. Sous nos climats, ce pourcentage est normalement bas, ce qui explique, en partie, les basses densités constatées ; mais cet handicap est contrebalancé par une grande longévité. On ne sait si les aires des espèces méridionales, comme *X. index*, *X. italiae* ou *X. mediterraneum*, sont imposées par une mortalité hivernale, une hygrométrie excessive ou par une insuffisance dans la reproduction qui serait due à des étés trop courts. On remarque, en effet, que la période de reproduction se déplace vers l'été ou vers l'hiver selon le climat. Ainsi, *X. diversicaudatum* se multiplie de mars à juin dans l'ouest et le sud-ouest de la France, alors

qu'en Italie, au sud de Pise, on a trouvé les femelles gravides dès le début du mois de janvier. Pour *Paralongidorus maximus*, STURHAN situe l'activité reproductrice de juin à l'automne, alors qu'en France cette phase est plus vague puisqu'elle peut se placer aussi bien en été qu'en hiver. Il est vraisemblable, bien que cela n'ait pu être encore vérifié sur un grand nombre de cas, que le métabolisme des *Longidorus* s'abaisse à l'extrême pendant la majeure partie de l'année et que la reproduction et le développement ne s'effectuent que pendant quelques mois. Cette période d'activité peut être plus ou moins étendue d'un biotope à l'autre. De multiples observations, on en déduit que les conditions climatiques européennes sont peu favorables aux espèces de *Xiphinema* et *Longidorus* qui s'y trouvent et les différences constatées dans les observations concernant la dynamique des populations aux U. S. A., tirent leur origine de ce phénomène. Pour cette raison, il est prudent d'éviter toute introduction, même de parasites paraissant peu redoutables, car ils peuvent ensuite trouver un milieu favorisant leur expansion.

II. — ANALYSE DES RELATIONS ENTRE LES « LONGIDORIDAE » ET LEURS PLANTES-HÔTES

Depuis quelques années, on a commencé à dresser les listes d'hôtes des *Xiphinema* et des *Longidorus*, mais ces travaux sont encore, pour la majorité des espèces, très incomplets, en raison des difficultés dues à leur maintien en milieu non naturel. En effet, ne peuvent être considérés comme hôtes véritables que les végétaux permettant, en conditions contrôlées excluant d'autres possibilités de nutrition, une augmentation de la population avec apparition de femelles gravides. La seule présence dans la rhisosphère est insuffisante, car elle n'implique pas obligatoirement un contact puisque ces nématodes sont susceptibles de se maintenir assez longtemps dans le sol sans grande activité. Ainsi, beaucoup d'entre eux survivent pendant plusieurs années après la disparition de l'hôte profitant des racines demeurées vivantes, comme *X. index* que l'on peut retrouver trois à quatre ans après l'arrachage d'une vigne. Les principaux travaux sur les gammes d'hôtes sont ceux de SCHINDLER (1957) sur *X. diversicaudatum*, ceux de SPRAU (1960) et STURHAN (1963) sur *P. maximus* et ceux de RADEWALD et RASKI (1962), WEINER et RASKI (1966) et tout récemment de COHN et MORDECHAI (1969) sur *X. index*. Certaines observations, complétées par des tests au laboratoire, ont permis d'allonger ces listes, ainsi : *X. mediterraneum* se reproduit sur les principaux porte-greffes de vigne et sur *Ficus carica* ; *P. maximus* attaque sévèrement *Vinca rosea* L. et *Apium rapaceum ; X. diversicaudatum* endommage sérieusement *Convallaria maïalis* L., *Vitis vinifera*, *Prunus persica* et *Rosa indica ;* pour *X. index*, *Jasminum officinale* L., *Morus alba* et *Populus* sp., s'ajoutent aux hôtes déjà rapportés par RADEWALD, WEINER, RASKI, COHN et MORDECHAI, c'est-à-dire : *Ampelopsis aconitifolia*, *Ficus carica*, *Parthenocissus tricuspidata*, *Pistacia mutica*, *P. vera*, *Vitis vinifera* et *Rosa* sp. (?), *Citrus aurantium*, *Urtica urens*, *Fragaria* × *anassa Bidens tripartita*. Une réserve doit être exprimée pour le rosier, la plupart des essais que nous avons tentés avec cette plante, et notamment avec les porte-greffes *R. indica* et *R. manetti*, ont échoué. Il semble donc que le rosier ne soit pas hôte, il en est de même pour le pêcher et le chêne. A la suite des travaux américains, nous avons testé

aussi en vain *Pistacia lentiscus*, très commun dans toutes nos garrigues. Contrairement aux deux autres pistachiers cités, celui-ci ne paraît donc pas héberger *X. index*, ce qui est un point très important dans la lutte contre ce parasite. Par contre, le Jasmin et le Peuplier se sont révélés des hôtes remarquables, mais ils sont moins répandus dans nos régions viticoles. Cependant, si sur peuplier, *X. index* provoque bien les nécroses et galles habituelles il n'est pas encore certain qu'il s'y multiplie aisément. Il est intéressant de noter qu'on ne connaît qu'une quinzaine d'hôtes pour *X. index*, alors qu'on en a signalé déjà plus de 70 pour *P. maximus*.

En dehors de tests précis de multiplication, l'association répétée d'une espèce avec un végétal donné, permet de présumer une association ; c'est le cas de *X. mediterraneum* qui est fréquent dans la rhizosphère de *Rosa indica*, *Prunus* sp., *Prunus persica*, *Cerasus* L., *Pinus halepensis*, *Quercus ilex*, *Q. pubescens*, *Thuya* sp., *Rubus idoeus*, *Jasminum officinale*,... ; *X. diversisaudatum* est commun au voisinage de *Prunus* sp., *Cerasus L.*, *Rubus idoeus*, *Quercus ilex*, *Quercus pubescens*, *Acacia* sp., *Vitis vinifera*,... ; *X. vuittenezi* près de *Rosa canina*, *Prunus* sp., *Vitis vinifera* ; *L. macrosoma* et *L. profundorum*, près de *Rubus idoeus*, *Rosa* sp., *Prunus* sp., *Cerasus L.*, *Hordeum Medicago sativa*, etc. Cette énumération pourrait être très longue, mais en fait cette question doit être abordée de manière différente.

1. *Influence du climat sur les relations entre les* Longidoridae *et les végétaux*

On ne peut aborder les relations entre les nématodes et leurs hôtes sans tenir compte de l'environnement. Les observations écologiques montrent nettement que les facteurs intrinsèques ne sont pas seuls en cause ; le climat peut cantonner une espèce dans les couches inférieures du sol, limitant les hôtes possibles à ceux qui s'enracinent profondément ; de même des conditions médiocres, en provoquant l'allongement du cycle, interdisent des hôtes éphémères. Les conséquences peuvent être grandes sur le plan pratique, car sous un climat favorable, on rencontrera l'espèce sur des végétaux plus variés. Voici quelques exemples.

X. diversicaudatum, qui est fréquent dans les régions atlantiques, se localise, assez étroitement, en Provence, aux arbres fruitiers et surtout aux rosiers. Alors qu'il est très commun dans les vignobles du Bordelais, de Cognac et de l'Anjou, on ne le connaît pratiquement dans aucun vignoble méditerranéen. A l'inverse, *X. mediterraneum*, endémique dans le Midi sur les peuplements végétaux les plus divers, est presque exclusivement associé à la vigne et aux arbres fruitiers sur la bordure nord de son aire. Un phénomène identique s'observe avec *X. italiae* qui, à une exception près, n'a été trouvé en France (limite nord de son aire méditerranéenne) que dans des vignobles. Or, dans le sud de l'Italie, il est associé à une végétation naturelle à base d'*Opuntia ficus-indica*, *Euphorbia dendroïdes*, *Euphorbia* sp. ; on le trouve aussi dans des pelouses, des vergers et des vignobles. En Israël, on connaît cette espèce dans les vergers de pêchers et citrus (cf. MARTELLI, COHN, DALMASSO, 1966).

Il semble donc, bien que son action soit indirecte et encore mal définie, que le climat intervienne dans les relations hôtes-parasites. La conséquence directe est que les hôtes du nématode sont plus nombreux et plus diversifiés au centre de l'aire qu'à sa périphérie.

2. *Influence de la nature et de l'état physiologique de l'hôte sur l'activité du nématode*

Certains végétaux, bien que non hôtes, peuvent être piqués occasionnellement. Cette nourriture qui semble peu profitable au nématode, peut assurer quelque temps sa survie, mais ne lui permet pas de se reproduire. C'est ainsi que, d'après certaines observations de laboratoire, *X. index* paraît s'alimenter sur pêcher et rosier sans pouvoir s'y multiplier. C'est un aspect des relations que l'on ne doit pas négliger, car ces végétaux, non hôtes, peuvent servir de plantes réservoirs aux virus transmissibles par ces nématodes. L'état physiologique de la plante a également une influence non négligeable ; ainsi le figuier, la vigne, le jasmin, ne sont plus capables d'assurer la reproduction de *X. index* lorsqu'ils sont trop fortement endommagés. Il en est de même pour les racines vivantes, mais coupées du végétal, qui prolongent la survie du nématode sans cependant lui permettre de se multiplier. On sait que seule la nutrition sur les radicelles nouvelles permet la reproduction de *X. mediterraneum* (cf. chap. précédent).

3. *Localisation de la nutrition. Les lésions*

Dans nos régions, les végétaux ont rarement à souffrir d'attaques violentes de la part des *Longidoridae*. Les dégâts directs sont modérés et insidieux, on observe parfois des dépérissements très nets accompagnés de blessures, mais cela reste rare. Tout se passe finalement comme si les espèces présentes en France ne rencontraient pas toutes les conditions nécessaires à un développement rapide.

Radewald (1962), Fisher et Raski (1967) qui ont étudié les sites de nutrition, supposent que les premiers stades de *X. index* se nourrissent préférentiellement dans les zones apicales des jeunes racines, au voisinage des poils absorbants, tandis que les stades âgés, dont les adultes, utilisent une zone plus étendue. Cela est possible, mais il est plus probable que la prise de nourriture s'effectue à peu près aux mêmes endroits pour tous les stades. Quant aux groupements de jeunes, constatés dans les secteurs d'émission des radicelles, ils sont le fait d'une activité reproductrice élevée, plutôt que la résultante d'un comportement nutritionnel spécial.

Les avis diffèrent également sur la manière dont les *Longidoridae* utilisent leur odontostyle. D'après Pitcher et Posnette, (1963), le stylet pénètre jusqu'au cylindre central, par contre, Fisher et Raski (1967), pensent que cela est exceptionnel et que les *Xiphinema* « picotent » assez superficiellement les racines. Des observations directes, réalisées sur des populations de *X. index* élevées dans des cellules à parois transparentes, confirment cette dernière façon de voir. C'est un point important, car des différences dans le mode de prélèvement de la nourriture, peuvent expliquer le pouvoir vecteur des Dorylaimides et, à l'opposé, l'incapacité des Tylenchides. Les déformations et les lésions qui résultent d'une forte attaque de *Longidoridae*, sont tout à fait caractéristiques et se distinguent nettement des dommages provoqués par d'autres nématodes phytoparasites, tels que les *Meloidogyne*, *Heterodera* et *Praylenchus*. La radicelle qui est piquée à son extrémité, voit sa croissance nettement affectée, elle s'épaissit et se boursoufle. Lorsque l'attaque est violente, des nodosités apparaissent et s'étendent sur plusieurs millimètres, à partir des pointes des nouvelles racines (fig. 7 et 8). Les racines plus âgées sont tordues et gonflées. Le stade ultérieur

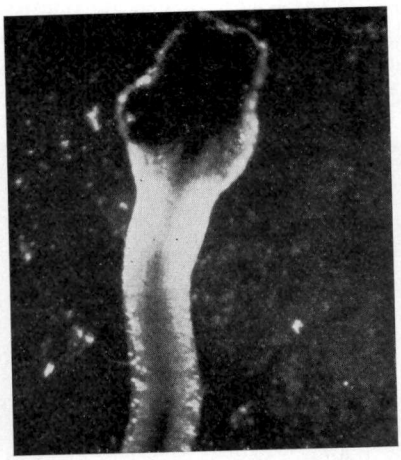


FIG. 7. — *Attaque de* X. index *à la pointe d'une racine de figuier*

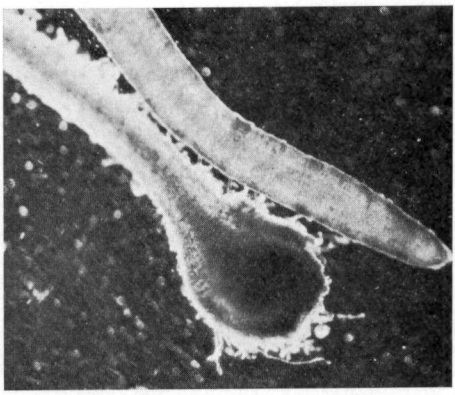


FIG. 8. — *Racine saine et racine attaquée*: X. diversicaudatum *sur pêcher*

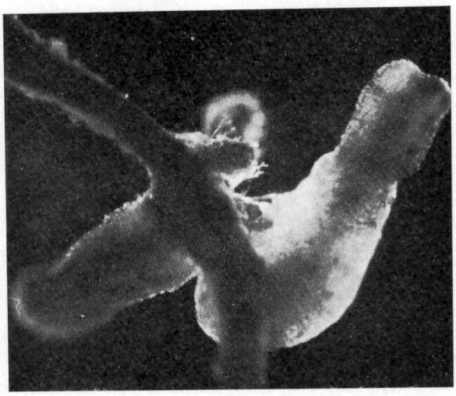


FIG. 9. — *Anomalies radiculaires résultant d'une attaque de* X. index *sur figuier*

est marqué par l'apparition de zones gangrenées. La plante tend à émettre latéralement de nouvelles radicelles qui sont à leur tour rognées et déformées. Il en résulte un enchevêtrement épais de tissus dégénérés, amalgamant plusieurs radicelles adjacentes (fig. 9 et 11). Les réactions varient d'un végétal à l'autre. Sur figuier, les fortes

FIG. 10. — *Grosse tumeur liégeuse d'extrémité:* X. index *sur figuier*

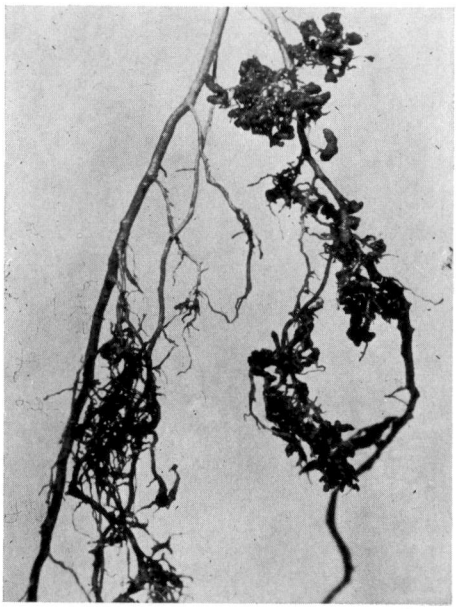


FIG. 11. — *Vue générale des dégâts causés par* X. index *sur figuier*

attaques de *X. index* provoquent l'apparition de petites tumeurs noirâtres, qui coiffent les extrémités des radicelles. Ces proliférations sont constituées par des amas liégeux inorganisés qui s'effritent au toucher (fig. 10).

Dans nos élevages en serre, les végétaux hôtes utilisés succombent à de telles infestations, mais il n'en est pas de même dans la nature où les dégâts, lorsqu'ils existent, sont limités à quelques foyers qui ne touchent qu'une faible partie de la

rhizosphère. Par ailleurs, les conditions climatiques extérieures entravent nettement l'activité de ces parasites et de plus, les populations sont rarement aussi élevées. Toutefois, certains *Longidorus*, particulièrement voraces, comme *L. vineacola* ou *P. maximus*, n'ont pas besoin d'être nombreux pour provoquer des dégâts spectaculaires qui peuvent aller jusqu'à l'anéantissement de la culture (fig. 12). Nous avons eu l'occasion de constater, surtout dans le bassin de Loire, des dommages particulièrement sévères, causés à des maraîchages et des pépinières de vigne, par *P. maximus*.

Une dernière remarque s'impose : les dégâts importants ne sont pas forcément liés à des pullulations, ils peuvent provenir aussi d'une activité intense et continue

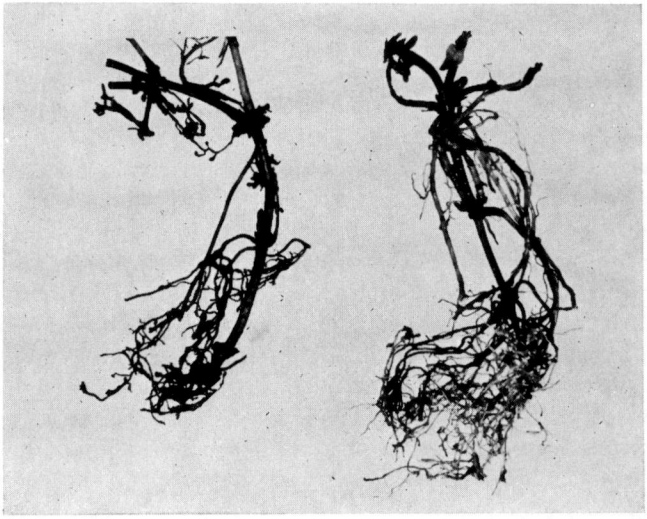


FIG. 12. — *Dégâts de* P. maximus *sur* Vinca. *Plante moyennement atteinte et plante fortement endommagée*

de quelques individus de grande taille se déplaçant au fur et à mesure de la croissance de la racine. L'action des *Longidoridae* se distingue, en cela, de celle des endoparasites (*Meloidogyne*,...) et même de celle d'ectoparasites plus ou moins sédentaires (*Paratylenchus*).

III. — MOBILITÉ ET DISSÉMINATION

La mobilité des nématodes dans l'eau, telle qu'elle nous apparaît à la loupe binoculaire, est trompeuse, car l'absence de point d'appui déforme et amplifie le mouvement. Lorsqu'on observe le déplacement des *Longidoridae* dans le sol, à travers un plan transparent, on constate qu'ils suivent le parcours des racines s'établissant en densité élevée dans les poches d'air très humides qu'ils rencontrent à leur proximité. Leurs mouvements sont normalement très lents. L'activité motrice s'accroît avec la température ; le passage 22° à 40°C entraîne une accélération de la mobilité et la cessation de prise de nourriture. La recherche des sites de nutrition implique des

déplacements, mais alors que chez d'autres nématodes phytophages (*Meloidogyne*, *Tylenchulus*, etc.), il existe des « stades libres » et, à l'opposé, plusieurs stades sédentaires, chez les *Longidoridae* tous les stades sont errants. On n'observe, de ce fait, aucune tendance à l'obésité. Toutefois, comme l'a souligné WALLACE, l'activité motrice reste limitée aux abords de l'hôte et ne participe nullement à la dissémination. Ceci justifie la nécessité, pour expliquer la présence d'une espèce dans une région donnée, de prendre en considération le facteur historique. De plus, l'absence de moyens suffisants de propagation entraîne l'isolement géographique qui, ajouté à l'isolement génétique, favorise la spéciation.

Colonisation d'un biotope

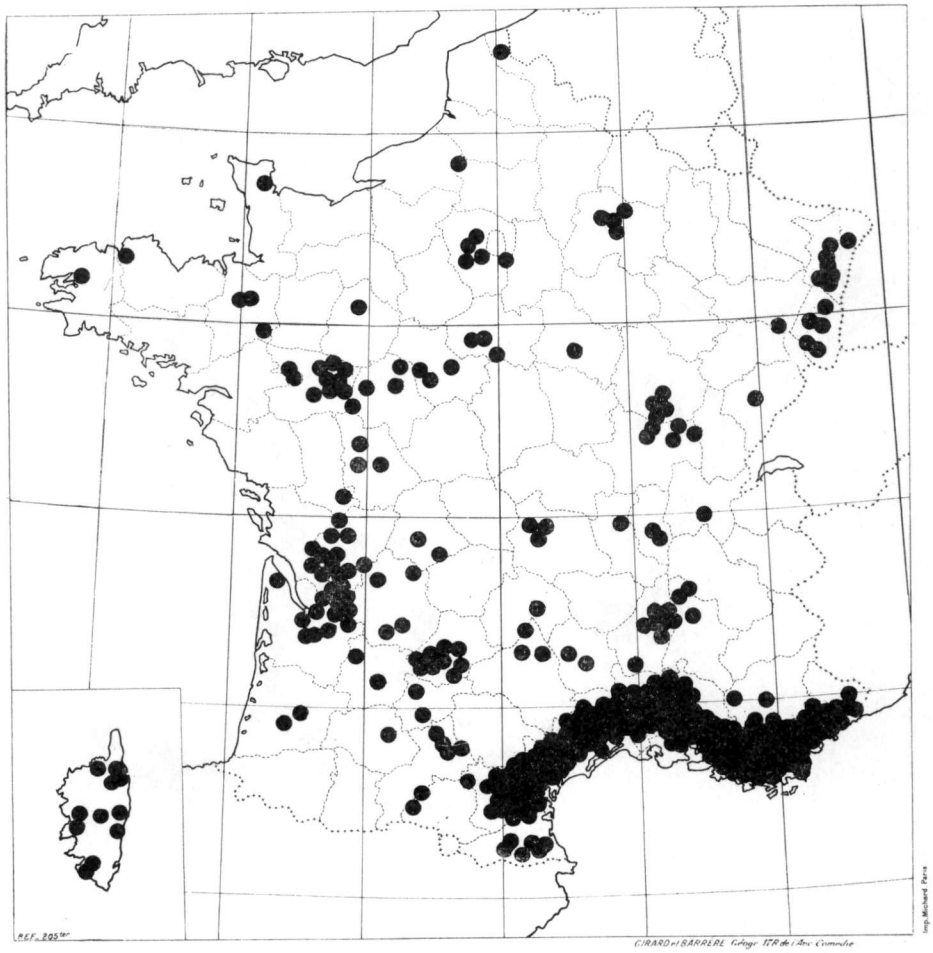
Les traitements nématicides, appliqués depuis quelques années de façon intensive, en particulier avant les replantations de vignobles, ont mis cette question au premier plan des préoccupations pratiques. Il est en effet important que les zones désinfectées ne soient pas rapidement recontaminées. L'invasion de parcelles traitées, par *X. mediterraeum* et *X. index*, a été suivie à Frontignan depuis 1959. Huit ans après, la progression de ces espèces a été de 1 m, à partir de la limite du témoin, les travaux agricoles s'effectuant parallèlement à cette limite (BOUBALS et DALMASSO, 1968) ce qui est relativement peu. Il est cependant évident que les travaux agricoles contribuent à étaler les zones contaminées, en particulier lors de l'arrachage. Cependant, l'absence de stades résistants et la grande fragilité des *Longidoridae*, constitue un frein à leur expansion. C'est ainsi que le franchissement de longues distances, de région à région, de continent à continent, ou le passage sur une île, ne peut se produire que par le transport artificiel de plantes enracinées. La colonisation naturelle par ces nématodes est donc lente à l'échelle humaine et les études de répartition apportent des données particulièrement intéressantes dans le domaine de la biogéographie.

Les *Longidoridae* sont prisonniers de leurs biotopes et contraints d'y demeurer, même si ceux-ci ne conviennent plus tout à fait à l'espèce. Ils ne disposent pas des possibilités de migration active ou passive plus ou moins développées chez la plupart des autres êtres vivants. Ainsi, c'est ici le milieu qui choisit le nématode et le végétal qui « va » vers le *Xiphinema*. On peut imaginer que des espèces aient pu se trouver séparées de leur préférendum par des phénomènes orogéniques ou des variations climatiques rapides et se soient accommodées, tant bien que mal, de zones qui ne leur conviennent plus tout à fait en prenant une activité ralentie ou épisodique. Ceci leur aurait permis de se maintenir sur des aires encore relativement étendues. Le comportement biologique des espèces que l'on rencontre en Europe est, à quelques exceptions près, très significatif.

IV. — ÉTUDE DE LA RÉPARTITION EN FRANCE DES PRINCIPALES ESPÈCES DE « LONGIDORIDAE »

Une dizaine d'années de prospections et d'examens faunistiques ont été nécessaires pour réunir un nombre suffisant d'informations sur la répartition des *Longidoridae* communs dans nos sols. 8 000 échantillons environ ont été étudiés à cette fin.

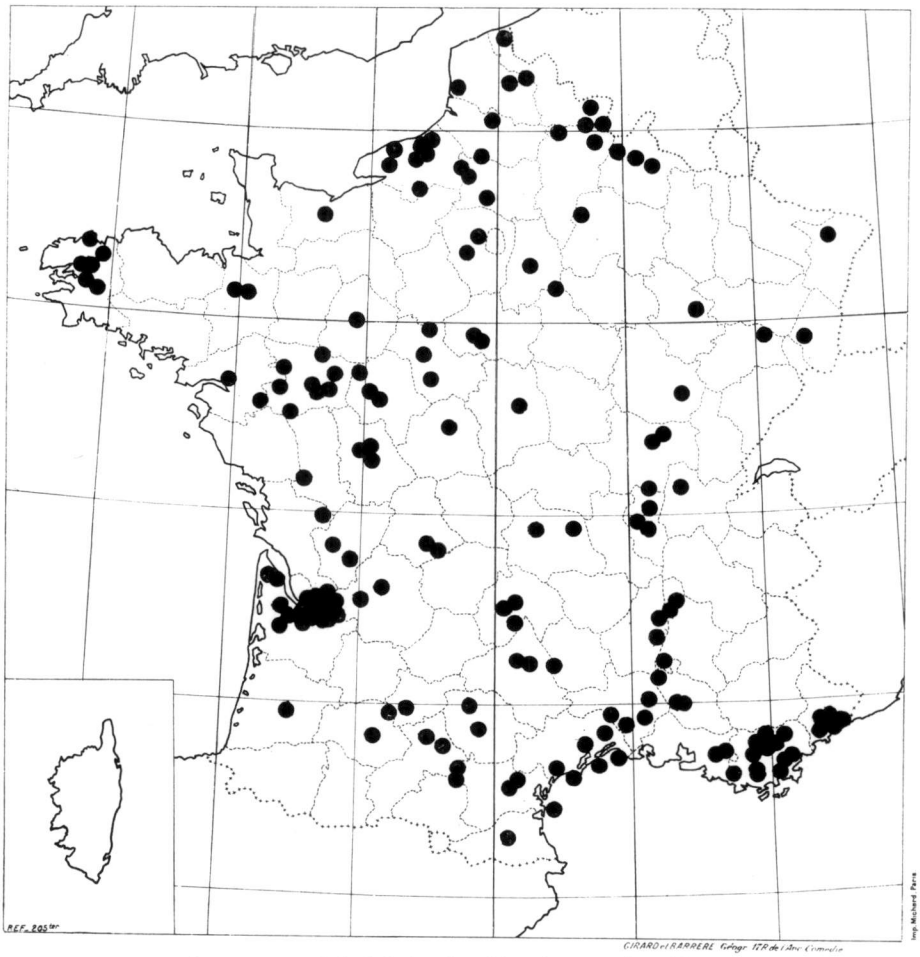
L'importance économique inégale des problèmes dans les régions géographiques, ou l'éloignement, n'ont pas permis de procéder selon un quadrillage rigoureux du territoire. Aussi cette approche porte-t-elle surtout sur les zones agricoles riches : grands bassins, vallées et versants peu élevés. Cependant, des secteurs incultes et quelques massifs montagneux ont été également prospectés. Ces massifs, qui ont souvent conservé les faunes édaphiques naturelles, permettent de recomposer les anciens équilibres et de donner une explication rationnelle aux répartitions actuelles. Peu à



CARTE 1. — *Aspect de la répartition du genre* Xiphinema

peu l'intérêt présenté, en France, par ce groupe de nématodes, encore totalement méconnu il y a seulement quelques années, s'est considérablement accru puisqu'on y reconnaît 26 espèces dont 10 *Xiphinema*, 15 *Longidorus* et 1 *Paralongidorus*, chiffre qui ne cesse d'augmenter. De ce fait, peu d'études de ce genre ont été réalisées jusqu'à présent, car on ne peut utiliser la littérature antérieure dépassée et en général très pauvre. Une prospection considérable est nécessaire et les modalités de prélèvement sont telles que seuls des correspondants spécialisés peuvent apporter une

contribution efficace. La première publication générale est celle de WEISCHER (1966). A cela s'ajoutent diverses notes taxonomiques et quelques signalisations d'espèces. Mais l'ensemble de ces travaux ne permet pas encore d'établir, avec précision, les aires européennes, même pour les espèces communes. La distribution relative des *Xiphinema* et des *Longidorus* est suggérée par les comparaisons des cartes 1 et 2. Celles-ci laissent apparaître une grande fréquence de *Xiphinema* dans le Midi. Cette prédominance est surtout le fait de trois espèces très communes : *X. mediterraneum*



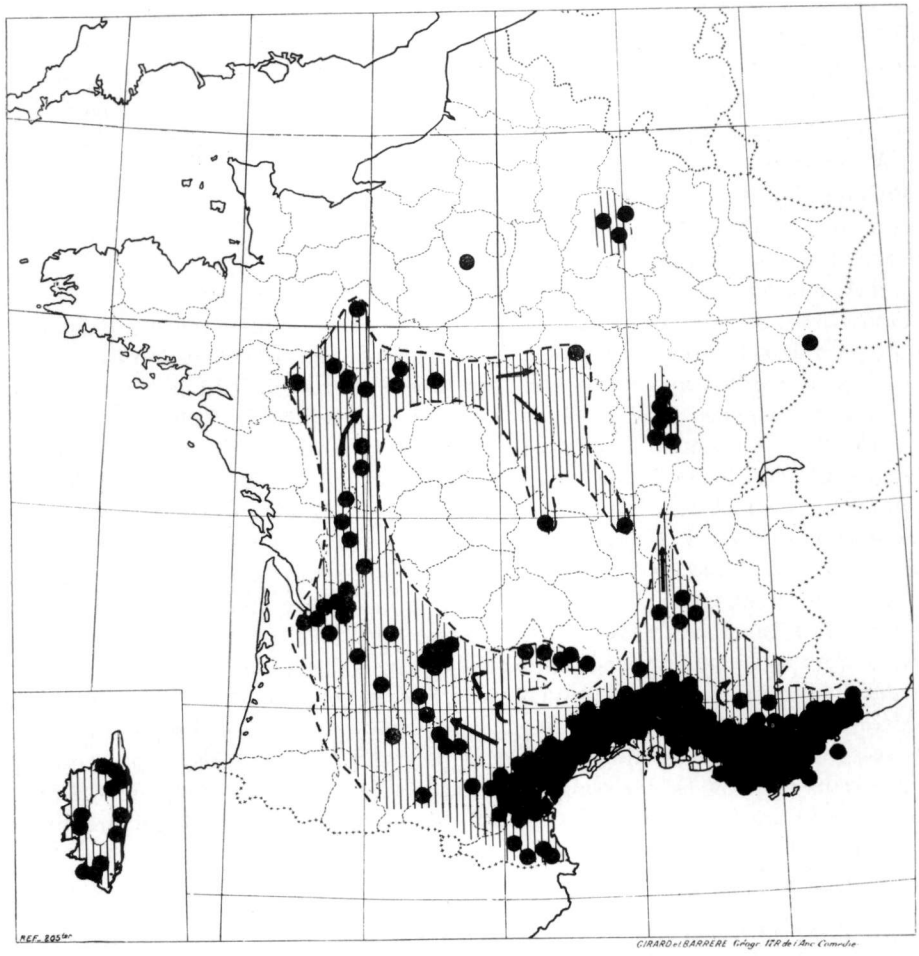
CARTE 2. — *Aspect de la répartition du genre* Longidorus

X. index et *X. diversicaudatum*. Les *Longidorus*, par contre, abondent davantage dans les zones plus fraîches et plus humides et donnent l'impression d'être plus dispersés. Nous verrons, en fin de chapitre, quelles sont les explications qui peuvent être avancées à ce sujet, mais on peut d'ores et déjà constater là une concordance avec les observations de WEISCHER, réalisées dans des régions plus septentrionales (Allemagne) et aussi, en partie, sur des espèces différentes.

1. *Répartition géographique des* Xiphinema

Xiphinema mediterraneum, MARTELLI et LAMBERTI 1967 (carte 3).

X. mediterraneum se rencontre dans certains sols légers, alluvionnaires, ayant un pourcentage en limons élevé. Il est rare dans les terrains sableux qui renferment peu d'éléments fins et il craint les sols asphyxiants, saturés en eau pendant une



CARTE 3. — *Répartition de* X. mediterraneum

grande partie de l'année. Son adaptation à la sécheresse, son aptitude à vivre sur des hôtes variés, sa longévité remarquable qui atteint plusieurs années, font de cette espèce, malgré une multiplication souvent freinée par l'environnement conduisant rarement à des populations excessives, l'un des nématodes les plus largement répandus aux abords de la Méditerranée. Il est ainsi ubiquiste dans une grande partie de la France, dans la péninsule ibérique, en Italie, Grèce, Bulgarie, Turquie, Moyen-Orient et Afrique du Nord.

La limite nord de son aire traverse la France où le Massif central a constitué un obstacle que l'espèce a contourné, à la fois par le couloir rhodanien et par l'Aquitaine. Dans la vallée du Rhône, l'espèce ne remonte que jusqu'au nord de Valence, c'est-à-dire aux confins de la zone climatique méditerranéenne. Elle réapparaît dans les vignobles de Bourgogne où elle forme un îlot assez étendu, elle est sporadique plus au nord dans des secteurs secs et bien exposés, souvent plantés en vigne (Champagne, Alsace [1]). En Aquitaine, elle remonte dans les vallées méridionales peu élevées, contournant les massifs élevés et les régions très arrosées comme le bassin de l'Adour et le Limousin. *X. mediterraneum* n'a pas été retrouvé dans la zone côtière sableuse le long de l'Atlantique, mais il s'infiltre par le Poitou vers la partie orientale du bassin de la Loire (peut-être en raison des précipitations annuelles plus faibles), en remontant les plaines riveraines, jusqu'à la Limagne et au bassin de Roanne.

X. mediterraneum n'existe pas dans le nord de l'Europe, il est notamment absent en Belgique, aux Pays-Bas. WEISCHER et STURHAN ne l'ont pas trouvé en Allemagne. FLEGG (1968) l'a signalé en Angleterre dans le Kent sur cerisiers et pêchers, mais il indique qu'il est exceptionnel.

Si *X. mediterraneum* est relativement sporadique dans les parties septentrionales de l'aire, il est, par contre, endémique dans tout le Midi, où on le rencontre dans tous les sols sauf dans les zones très sableuses et des hauts sommets. Mais à ces exceptions près, il existe partout souvent associé à une faune phytoparasite ayant des aptitudes écologiques analogues comme *Helicotylenchus varicaudatus*, *Macroposthonia xenoplax*, *Paratylenchus* spp. Il fait aussi pratiquement défaut dans les sols maraîchers très travaillés, où les façons culturales constituent un obstacle à son maintien sous forme de populations appréciables. Et pourtant, son installation paraît avoir été nettement influencée par l'Homme ; ceci est d'ailleurs encore net dans le nord de l'aire où il est rare dans les zones incultes et où il se localise essentiellement dans les vignobles et les vergers. L'expansion de *X. mediterraneum* a dû être favorisée par le déboisement qui s'est instauré à l'âge du bronze après l'introduction de l'agriculture et qui a marqué un tournant irréversible dans les conditions édaphiques des régions méditerranéennes, conduisant peu à peu vers les sols arides et secs des garrigues et maquis. En dépit de l'absence de tout document paléontologique, on peut supposer que c'est vers cette époque que *X. mediterraneum*, à partir de stations refuges où il avait pu se maintenir pendant les phases plus fraîches et plus humides qui avaient précédé, s'est répandu dans les vallées. Là, il a progressivement acquis le caractère d'endémisme qu'on lui connaît actuellement.

Xiphinema rivesi, DALMASSO, 1969 (carte 4).

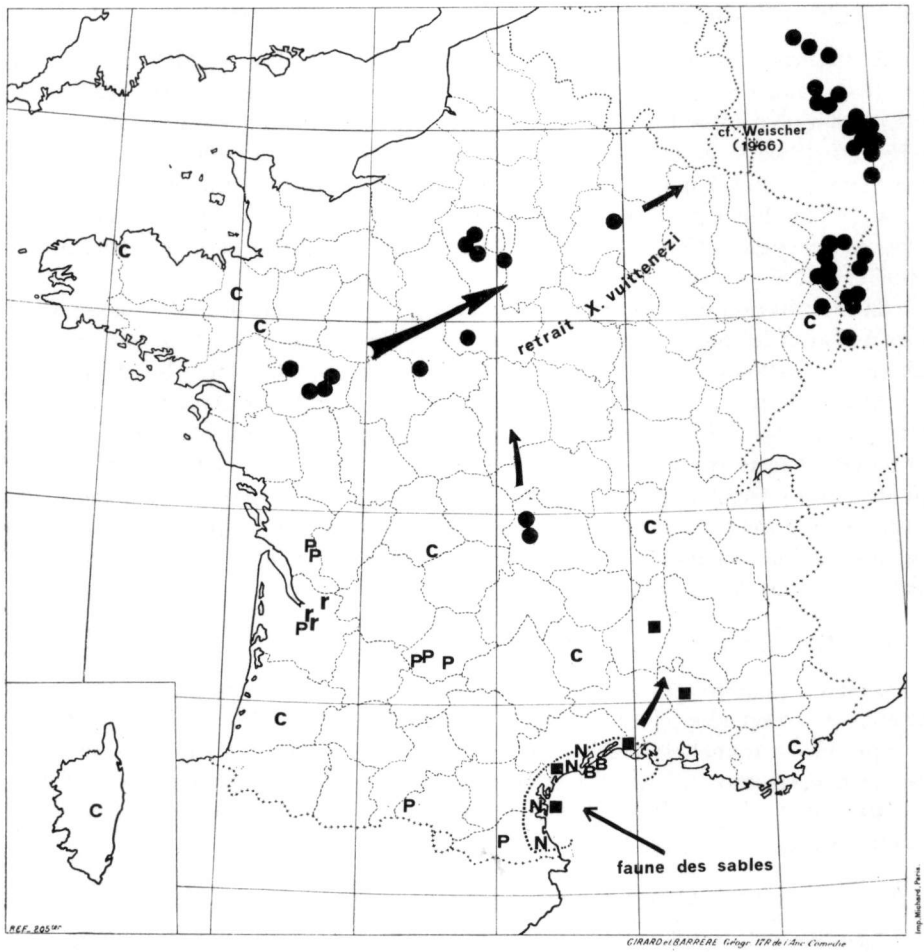
Cette espèce appartient, comme *X. mediterraneum*, au groupe *X. americanum*. Elle est très localisée en France et n'est connue actuellement que dans le Bordelais, dans des pâtures, vignobles et vergers. Il s'agit probablement d'un îlot détaché dont l'aire d'origine reste à établir.

Xiphinema brevicolle, LORDELLO et DA COSTA, 1961 (carte 4).

Également du groupe *X. americanum*, il est très rare puisqu'il n'est connu, chez nous, que dans les sables littoraux du cordon languedocien. Il en est un peu de même en Italie où *X. brevicolle* a été signalé dans une localité de Vénétie (MARTELLI,

[1] Communication personnelle de A. VUITTENEZ.

LAMBERTI, 1967). Il s'agit là de localisations septentrionales mineures, car cette espèce est, par contre, très commune en Israël dans les zones sableuses centrales et côtières où COHN (1969) a dénombré des populations très élevées. Ainsi, à l'opposé de *X. mediterraneum*, *X. brevicolle* a une préférence bien marquée pour les sables. C'est, de plus, un cas intéressant, en raison de sa localisation en France à l'étroite bande côtière du Languedoc qui héberge aussi d'autres espèces également peu répandues, constituant là une faune tout à fait particulière.



CARTE 4. — *Répartitions de:* X. vuittenezi : ● ; X. italiae : ■ ; X. coxi : C ; X. pyrenaïcum : P ; X. neovuittenezi : N. ; X. brevicolle : B ; X. rivesi : *r*.

Xiphinema italiae, MEYL, 1953 (carte 4).

X. italiae est répandu autour du bassin méditerranéen : on l'a signalé en Italie, où il est abondant, surtout dans le sud (MARTELLI, LAMBERTI, 1967) et il remonte jusqu'en Toscane, il est aussi commun en Grèce (TERLIDOU, 1967), en Bulgarie (STOYANOV, 1964), en Turquie, en Israël (COHN, 1969), en Algérie (DALMASSO et CUANY, 1969).

En France il est rare et son aire se limite à deux zones : celle des sables littoraux du Roussillon, Languedoc et Bas-Rhône et celle de la plaine alluviale de Carpentras. Sa taille paraît influencée par la granulométrie du sol, elle est plus faible dans les stations comportant des fractions importantes de limons et argiles. On peut considérer que les populations françaises constituent les îlots les plus nordiques de son aire. Tout comme *X. brevicolle*, il constitue une « espèce caractéristique de la faune des sables littoraux méditerranéens ».

Xiphinema vuittenezi, LUC, LIMA, WEISCHER, FLEGG, 1964 (Carte 4).

X. vuittenezi est une espèce continentale, très répandue en Allemagne et dans l'est de la France et qui s'étend largement vers l'Europe centrale. BRZESKI (comm. pers.) le donne comme le *Xiphinema* le plus commun en Pologne, il est aussi présent en Hongrie (SAROSPATAKI, MARTELLI, LEHOCZKY, 1968). Il se raréfie vers l'Atlantique ; en Angleterre, on le connaît dans une seule localité : la Station Expérimentale d'East Malling et au Portugal dans une localité de même type : le Jardin Botanique de Lisbonne (cf. description de l'espèce), dans les deux cas, il a pu être introduit accidentellement.

Sa distribution est très intéressante en France, en effet, outre l'Alsace qui prolonge à l'ouest les importants foyers, mis en évidence par WEISCHER dans le bassin rhénan, *X. vuittenezi* a été trouvé plusieurs fois le long de la Loire, de l'Allier et aux environs de Paris. Il faut souligner que toutes ces régions reçoivent annuellement entre 500 et 700 mm de pluie, soit moins que les régions environnantes où l'espèce n'a pu encore être trouvée. On ne sait encore s'il s'agit de la partie la plus occidentale de l'aire principale de l'espèce qui atteindrait la Loire par la Champagne et le bassin de la Moselle, ou si l'on se trouve là en présence d'un vaste îlot relique traduisant un recul de cette même aire. Or, il semble que l'aire soit effectivement coupée entre le Morvan et les Ardennes.

X. neovuittenezi, DALMASSO, 1969 (carte 4).

C'est une espèce très localisée qui n'est actuellement connue que dans les sols sableux du Languedoc et du Roussillon, c'est-à-dire sous climat chaud et très sec (précipitations annuelles inférieures à 500 mm). Des prospections plus intensives devraient permettre de le retrouver dans d'autres pays méditerranéens. Comme *X. italiae* et *X. brevicolle*, ce nématode caractérise la faune des sables littoraux du Languedoc.

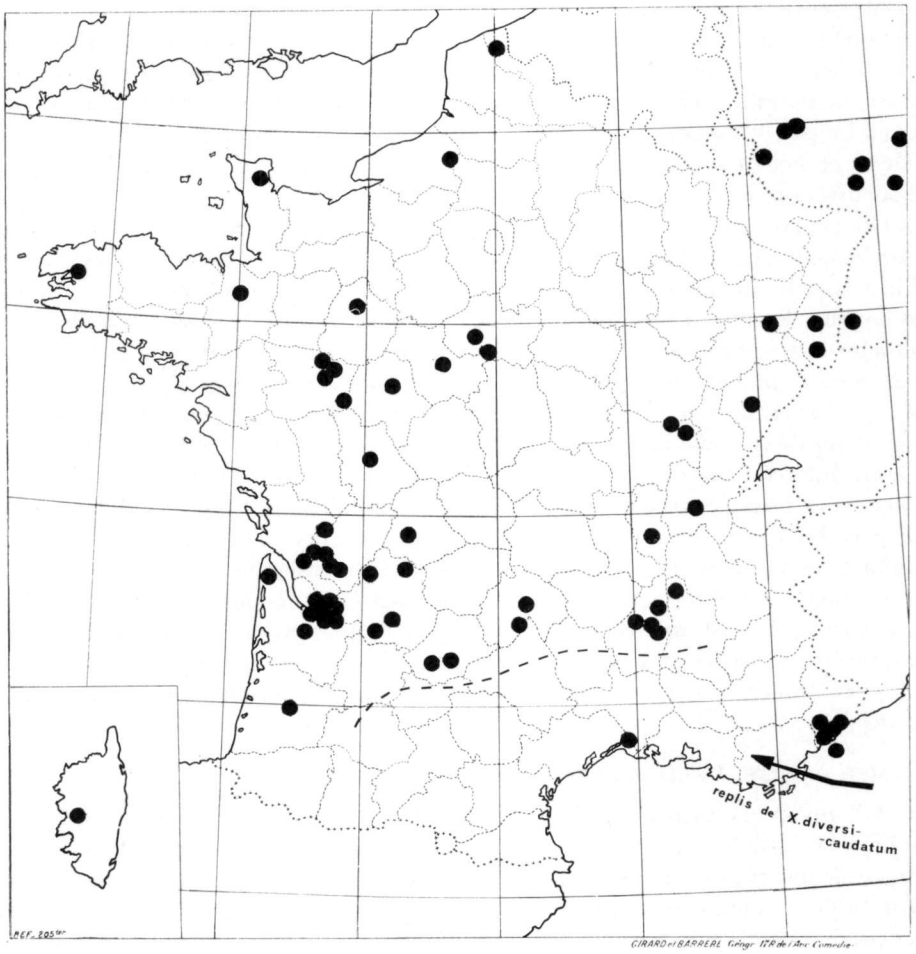
X. pyrenaïcum, DALMASSO, 1969 (carte 4).

Cette espèce récemment décrite est souvent associée à *X. diversicaudatum* qu'elle rappelle beaucoup par sa taille et sa morphologie. On ne le connaît jusqu'à présent que dans le sud-ouest de la France (une dizaine de localités éparpillées entre les Charentes et le Roussillon).

X. coxi, TARJAN, 1964 (carte 4).

Il existe manifestement deux formes de *X. coxi*. Les populations que l'on rencontre en Europe diffèrent assez sensiblement de celle trouvée à Orsino-Merritt Island en Floride, qui a servi de type, et à laquelle elles ont été rattachées. En France,

X. coxi, A. C. TARJAN, 1964, vit dans les régions boisées du vieux socle hercynien : Corse, Maures, Bretagne, Vosges, Massif central, bordure des Pyrénées. Sa localisation sur les anciens massifs est assez nette ; c'est ainsi que WEISCHER l'a trouvé dans l'Odenwald. Cette espèce fréquente les sols humides et incultes, s'adaptant mal aux cultures. Son aire qui est morcelée et dispersée, implique une ancienne répartition beaucoup plus étendue. Les spécimens bretons avec des tailles qui n'excèdent pas 3 mm se distinguent des individus plus orientaux qui atteignent facilement 4 mm. On le multiplie sur rosier.



CARTE 5. — *Répartition de* X. diversicaudatum

Xiphinema diversicaudatum (MICOLETZKI 1927), THORNE, 1939 (carte 5).

X. diversicaudatum est une espèce de climats doux et humides et, à ce titre, elle abonde dans la rhizosphère de nombreux végétaux le long des côtes de l'Atlantique et de la Manche. A ce propos, PITCHER et JHA (1961), ont donné un aperçu de son écologie en Angleterre ; ils remarquent que ce nématode est ordinairement clairsemé dans les sols cultivés et dense sous les haies, les buissons et les bois. *X. diversicau-*

datum est, au contraire, assez exceptionnel en bordure de la Méditerranée, probablement en raison de la sécheresse qui sévit en été. Il est ainsi cantonné sur la Côte d'Azur et la Riviera italienne, dans les endroits humides (forêts épaisses, îles...), ou dans les terres irriguées (serre de rosiers), il descend encore plus au sud puisqu'on le retrouve en Italie dans des vergers de Toscane (GUERRIERO, comm. pers.), dans le Latium (MARTELLI, LAMBERTI, 1967) et même en Grèce (TERLIDOU, 1967). Mais il ne s'agit là que de quelques îlots méridionaux et, en fait, son aire se situe un peu plus au nord. Avec l'Angleterre, c'est l'ouest de la France qui lui offre les meilleures conditions de développement. Il est plus dispersé vers l'intérieur des terres. On peut considérer que sa limite sud passe par les Alpes de Provence, le sud du Massif central, puis s'infléchit vers le sud, vers la côte Atlantique. Il est rare dans les contrées plus froides, et pourtant TAYLOR, THOMAS et CONVERSE (1966), ont signalé une population en Écosse, WEISCHER (1966), l'a aussi rencontré à diverses reprises dans le bassin Rhénan et nous l'avons recueilli dans le Massif central aux cols du Lioran et de Curebourse aux environs de 1 000 m d'altitude.

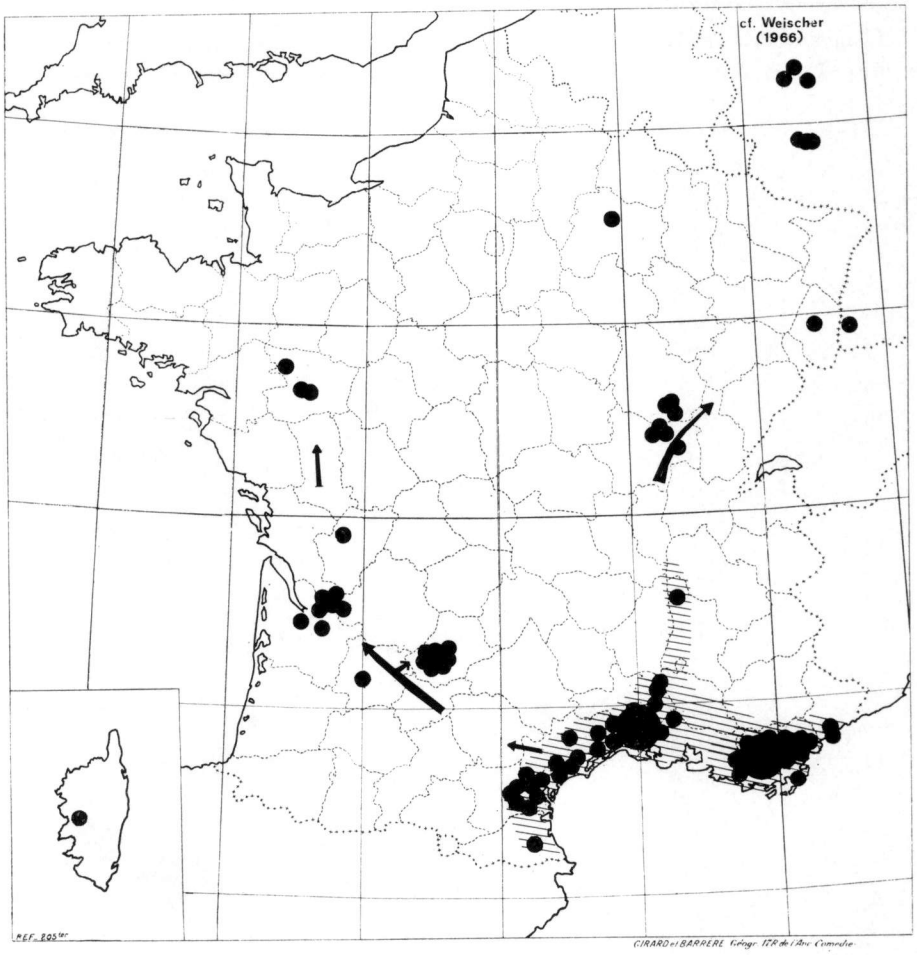
On connaît mal la période qui a suivi le retrait des glaciers après le Wurm, mais l'assèchement progressif qui lui a succédé et qui a conduit au climat méditerranéen, tel que nous le connaissons, a sans doute repoussé son aire vers le nord et l'a éliminé des secteurs les plus arides du Languedoc et de Provence. *X. diversicaudatum* s'est accroché dans certaines stations fraîches et humides en bordure de la mer ou des rivières et sa période de reproduction s'est déplacée vers l'hiver. Quelques-uns des îlots que l'on trouve çà et là autour de la Méditerranée pourraient être des reliques témoignant de ce recul, que l'on pourrait situer vers la fin de l'âge du fer, au moment où s'est amorcé l'assèchement de ces régions et lorsque la garrigue s'est installée à la place des forêts épaisses et humides qui recouvraient le bassin rhodanien et la Provence à l'âge du cuivre. Ils pourraient aussi être dus, bien souvent, à des introductions, notamment chez les rosiéristes des Rivieras italienne et française.

On peut aussi observer que les influences climatiques rendent *X. diversicaudatum*, d'une part et *X. vuittenezi* et *X. coxi*, d'autre part, plus ou moins vicariants ; le premier préfère les zones fraîches et arrosées, tandis que ces derniers manifestent, du moins en France, une préférence plus marquée pour les zones plus froides et plus sèches.

X. index, THORNE et ALLEN, 1956 (carte 6).

A l'opposé des autres *Xiphinema*, la répartition de *X. index* est en grande partie conditionnée par le végétal. La vigne étant de loin son hôte principal, limite son aire à celle des grands vignobles. Son installation est donc très récente et se poursuit encore. Elle se déroule selon le même processus qui a présidé à l'installation de *X. mediterraneum* ; c'est-à-dire, suivant deux directions : par l'Aquitaine, vers les vignobles de l'Ouest et du Sud-Ouest et par le couloir rhodanien vers l'Alsace. Bien adapté au climat méditerranéen, il s'étend à travers l'Italie (MARTELLI et RASKI, 1963), la Grèce (TERLIDOU, 1967), la Turquie (VUITTENEZ et LEGIN, 1964), l'Iran (BOUBALS, comm. pers.), la Tunisie (RITTER, 1959) et l'Algérie (SCOTTO LA MASSESSE, 1961 ; DALMASSO et CUANY, 1969). On l'a aussi signalé dans des pays plus septentrionaux, comme l'Allemagne (WEISCHER, 1966) et la Hongrie (SAROSPATAKI, MARTELLI, LEHOCZKY, 1968), ou même plus orientaux, comme, par exemple, l'Irak (KATCHO et ALLOW, 1968). En France il est très commun dans tous les vignobles du Midi, mais on connaît

aussi quatre zones importantes d'infestation qui sont : la Bourgogne, la région de Cahors, le Bordelais (Saint-Émilion, Pomerol et environs) et enfin l'Anjou. La survie de cette espèce y est facilitée par la stricte spécialisation viticole de ces territoires où les zones d'appellation et la petite propriété incitent souvent à planter vigne sur vigne. A l'observation, on remarque que les grandes régions viticoles sont les plus touchées, les petits vignobles isolés sont souvent indemnes. C'est ainsi que l'insularité et les particularités des vignobles corses a sans doute évité une invasion analogue à



CARTE 6. — *Répartition de* X. index

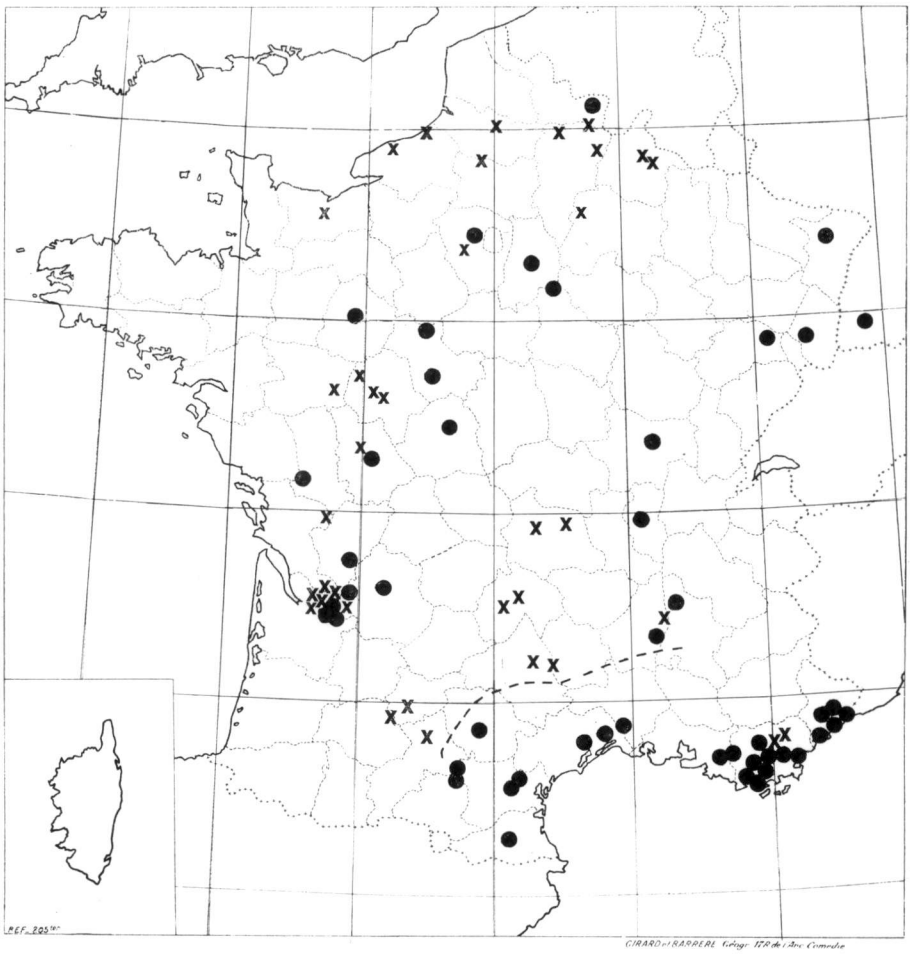
celle que l'on observe dans le Var et bien que *X. index* y ait été découvert récemment, il est rare. L'éradication de ce parasite, si important pour notre viticulture, ne pose pas de problème majeur, son élimination n'est qu'une question d'information et de prophylaxie. A l'image de l'aire française, la distribution mondiale de cette espèce est curieusement morcelée ; bassin méditerranéen, Californie, Argentine et Chili. Il y a de grandes chances pour que la Méditerranée soit le berceau de l'espèce qui aurait été introduite sur le continent américain par l'intermédiaire de vignes en bac.

L'importance de sa distribution dans le bassin méditerranéen et l'abondance de quelques hôtes très favorables spontanés (figuier, jasmin, par exemple), plaident en faveur de cette hypothèse. Contrairement à *X. coxi*, qui est restée une espèce des milieux naturels, *X. index* vit essentiellement en France dans les zones cultivées.

2. *Répartition géographique des* Longidorus *et* Paralongidorus

Longidorus macrosoma, HOOPER, 1961 (carte 7).

L. macrosoma est réparti assez uniformément en France, sans être toutefois très commun. Cependant on le rencontre plus fréquemment dans le sol au voisinage de



CARTE 7. — *Répartitions de:* L. macrosoma : ● ; L. profundorum : X.

rosacées, notamment autour des cerisiers qui constituent l'un de ses hôtes préférentiels. *L. macrosoma* a été décrit en 1961 par HOOPER, depuis il a été signalé à plusieurs reprises en Angleterre et en Belgique (D'HERDE et VAN DEN BRANDE, 1964). Il est

inconnu en Écosse et très rare en Allemagne où le Rhin semble constituer sa limite orientale. Il apparaît ainsi comme une espèce atlantique débordant sur la partie occidentale de la Méditerranée. Craignant les localités froides, il est absent en altitude où il est remplacé par *L. profundorum* et *L. cæspiticola*

Longidorus profundorum, HOOPER, 1965 (carte 7).

Cette espèce abonde dans les haies, les bois et les pâturages du Nord, du Bordelais, du bassin parisien et du bassin de la Loire. Il existe aussi dans les hautes vallées du Massif central et se maintient dans les sols cultivés en vergers (pommiers et poiriers) et en vignobles. *L. profundorum* couvre la majorité du territoire à l'exception du Bas-Rhône et du Languedoc-Roussillon ; on le trouve, par contre, de temps à autre dans les vignobles du haut Var.

L. profundorum vit principalement dans les milieux naturels et, pour cette raison, il est certainement plus fréquent que le révèle la carte 7. On peut le comparer en importance à *X. mediterraneum*, mais avec une aire plus vaste. Comme *L. macrosoma*, il n'est guère signalé qu'en Angleterre et en France. On ne le connaît pas en Allemagne. Il doit, toutefois, déborder en Belgique, en Italie du nord et sur la péninsule ibérique, bien que l'on n'ait encore aucune information à son sujet dans ces pays. En cela, son aire concorde assez bien avec celle de *L. macrosoma*, mais il est plus commun que ce dernier parce qu'il paraît moins inféodé aux plantes ligneuses, notamment dans la moitié nord de la France.

D'autre part, alors qu'en Angleterre il se localiserait dans les couches profondes, d'où son nom (cf. HOOPER, 1965 et FLEGG, 1968), on le rencontre chez nous à tous les niveaux, ce qui indiquerait qu'il s'y trouve peut-être à son optimum.

Longidorus elongatus, (DE MAN, 1876) HOOPER, 1961 (carte 8).

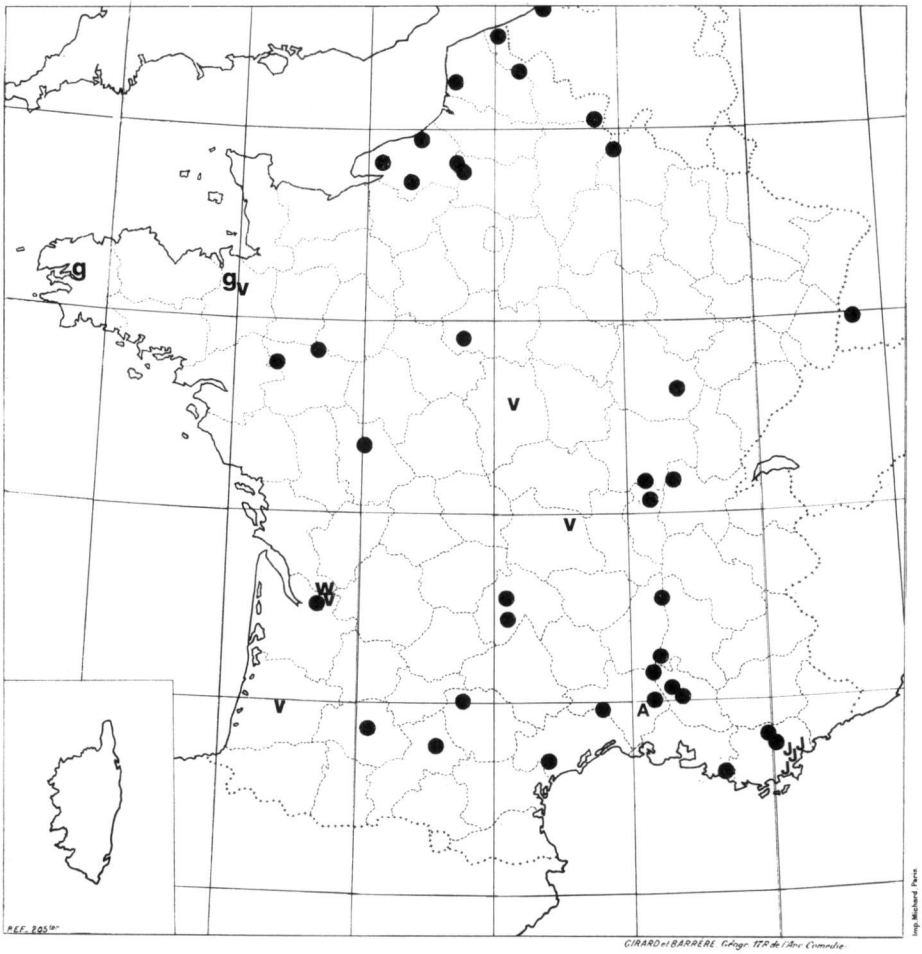
L'aire de *L. elongatus* est à la fois vaste et clairsemée. Cette espèce a été signalée aux Pays-Bas, en Grande-Bretagne, en Allemagne. Il existe toutefois des variations notables dans la taille des individus et la forme du contour labial entre les populations d'origines différentes et l'étude écologique doit en tenir compte. Ainsi, les spécimens recueillis dans le nord de la France se rattachent aisément aux types britannique et néerlandais, caractérisés par l'absence d'expansion céphale ; par contre, les individus provenant de localités méridionales montrent presque tous une proéminence nette, et de nombreux cas sont nouveaux. Enfin deux populations récoltées dans des pâtures à Saint-Émilion en Gironde et à Ouroux (Saône-et-Loire) présentent un pourcentage de mâles très élevé atteignant 50/50, alors que le mâle de *L. elongatus* est normalement rare. Ce phénomène se répète pour d'autres espèces de *Longidorus*, mais aucune explication satisfaisante concernant le déterminisme du sexe n'a pu encore être donnée. Les examens cytologiques portant sur les *Xiphinema* et les *Longidorus* à mâles nombreux montrent que le nombre de chromosomes est identique chez les deux sexes, par exemple, le mâle et la femelle de *X. diversicaudatum* ont 20 chromosomes, chez *L. macrosoma* on observe 14 chromosomes pour les deux sexes. L'étude du phénomène chez *L. elongatus* est en cours.

Autres Longidorus (cartes 8 et 9).

Le genre *Longidorus* est encore représenté par plusieurs espèces d'importance plus réduite et dont la plupart ne sont connues à ce jour que dans quelques localités

ou sur des territoires de faible étendue. Beaucoup n'ont été découvertes en France qu'à une date récente, ce qui laisse présager que l'on est loin d'avoir recensé tous les *Longidorus*.

L. caespiticola HOOPER, 1961 : commune dans le Finistère et en Seine Maritime, cette espèce est beaucoup plus rare dans la moitié sud de la France. Dans le nord-ouest de la France, on la rencontre surtout dans les pâturages et dans les cultures de fraisiers.



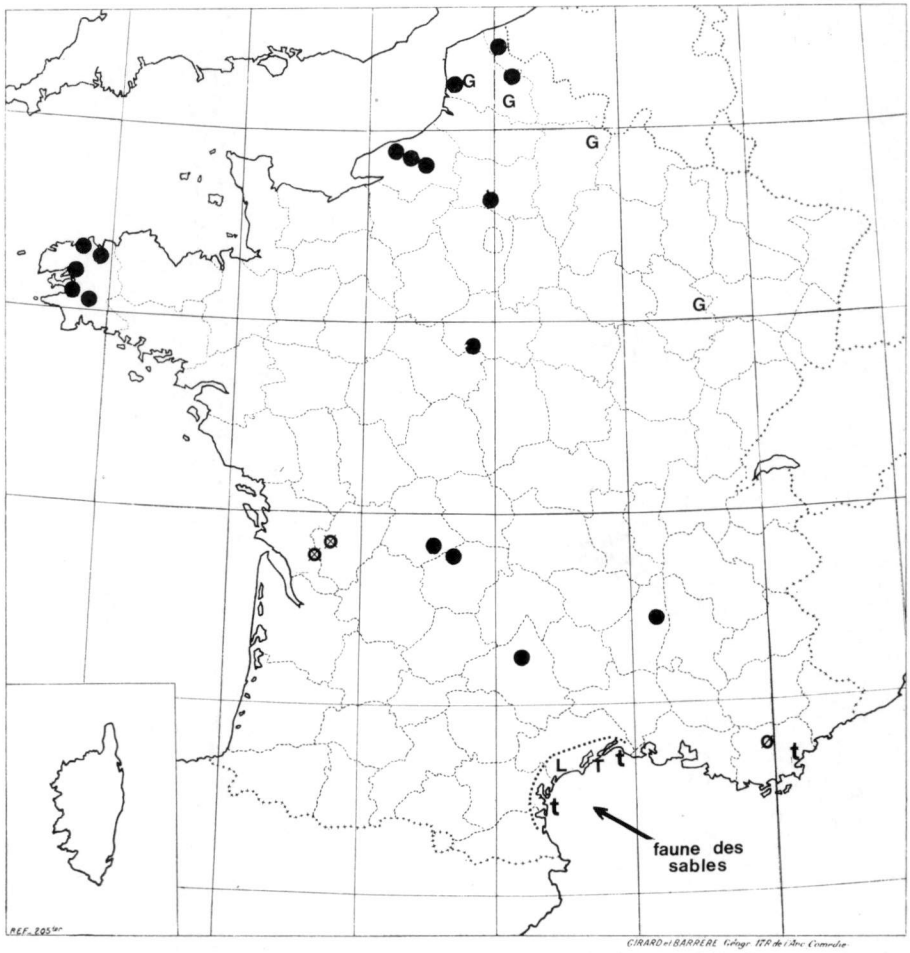
CARTE 8. — *Répartition des nématodes du groupe* L. elongatus : L. elongatus : (s. l.) ● ; L. juvenilis : J ; L. attenuatus : A ; L. globulicauda : G ; L. vineacola : V.

L. goodeyi HOOPER, 1961 : signalé en Angleterre, en Allemagne et en Bulgarie, a été trouvé dans le nord-est de la France. Quelques différences morphologiques ont pu être constatées avec les spécimens types ; la taille est souvent plus réduite, chez la femelle la queue est moins arrondie et le profil céphalique légèrement moins large, mais la structure de l'amphide est bien la même.

L. vineacola STUHRAN et WEISCHER, 1964 : présente également une aire dis-

continue ; une localité en Allemagne (alluvions sableuses de la Moselle), cinq localités dans l'ouest de la France, plusieurs en Israël. Bien que peu fréquente, cette espèce atteint quelques fois des populations élevées et cause alors des dommages sérieux aux cultures (COHN et KRIKUN, 1966). *L. vineacola* manifeste en cela quelque analogie avec *P. maximus*, nématode phytoparasite de grande taille comme lui.

A ces espèces qui sont, selon toute vraisemblance, anciennes, il convient d'ajouter *L. globulicauda* DALMASSO, 1969, installée en Bretagne où elle a été recueillie à plusieurs reprises et *L. closelongatus*, Stoyanov 1964, qui remplace *L. elongatus* dans le midi.



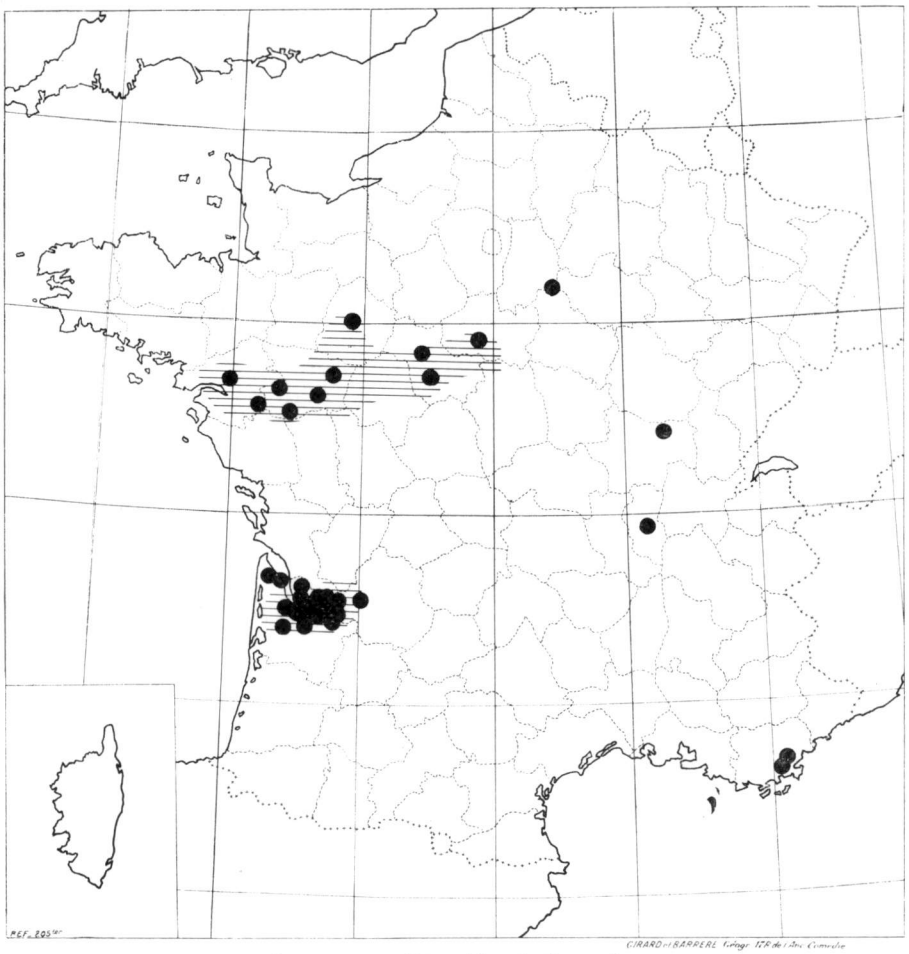
CARTE 9. — Répartition de : *L. caespiticola* ; ● — *L. goodeyi* ; G. — *L. ssp.* ; ⊗ et ∅ — Faune des sables littoraux : *L. laevicapitatus* ; L — *L. taniwha* ; t — *L. tarjani* ; T.

Un deuxième ensemble de *Longidorus* rassemble des espèces trouvées dans le Midi sur le cordon littoral languedocien et sur la côte varoise. Leur présence pose un véritable problème ; s'agit-il d'introductions ou de reliques de climats subtropicaux très anciens? Il semble bien que la première hypothèse soit la plus exacte car, en

dépit de la fragilité de ces nématodes, on peut constater que les localités qui les abritent sont toujours à proximité de ports et d'anciennes places commerciales.

On peut ranger dans cette catégorie *L. attenuatus*, mis en évidence près de Bellegarde dans le Gard et connu par ailleurs dans quelques places en Angleterre, en Allemagne et en Italie (TALAME, *in litteris*).

Mais la majorité des espèces à aire restreinte et vraisemblablement d'introduction récente est groupée sur les sables entre Narbonne et Montpellier. On y compte



CARTE 10. — *Répartition de* P. maximus

L. taniwha, que l'on retrouve d'ailleurs près de Fréjus et qui vient d'être signalé par COHN en Israël, alors que la description originale est basée sur des populations néozélandaises. Il en est de même pour *L. tarjani*, récolté en très petit nombre à deux reprises aux environs d'Agde et qui représente une curiosité véritable puisqu'il s'agit du seul emplacement nouveau depuis que l'espèce a été décrite à partir d'une population originaire de Floride. *L. laevicapitatus* a été recueilli dans des conditions analogues aux environs de Béziers et de Sète au voisinage de *Morus* sp. et *Arundo donax*.

Il est curieux de noter que ce *Longidorus* vit habituellement sur canne à sucre à l'Ile Maurice, en Côte d'Ivoire et aux Antilles. Or, Olivier de SERRES apporte une information intéressante en indiquant qu'une tentative d'introduction de canne à sucre aurait eu lieu au XVI^e siècle, mais que les cultures auraient périclité au cours du siècle suivant. On peut supposer que *L. laevicapitatus* a survécu à cette aventure, grâce à des hôtes secondaires au rang desquels figure peut-être la canne de Provence. On peut donc conclure qu'il y a eu là introduction ; un autre argument est qu'il faudrait remonter pratiquement au pliocène pour retrouver un climat tropical ou subtropical, or, à cette époque la mer s'est avancée jusqu'à Lyon. Si des stations refuges avaient subsisté, elles se seraient nécessairement situées en dehors des zones où on le trouve actuellement, puisqu'elles n'existaient pas avant les périodes historiques et l'aire devrait être aussi plus étendue qu'elle ne l'est.

Il en est vraisemblablement de même pour certains *Xiphinema*, tel *X. brevicolle*, très commun en Israël, retrouvé près de Montpellier, il y a quelques années, puis récemment en Vénétie par MARTELLI et LAMBERTI.

Il est enfin des cas où toute hypothèse est encore prématurée en raison de la rareté des informations, par exemple *L. juvenilis* DALMASSO 1969, qui fréquente les sols d'alluvions bordant de petits cours d'eau dans le département du Var (Argens, Reyran, Préconil), aux environs de Fréjus.

Paralongidorus maximus (BUTSCHLI 1874), M. R. SIDDIQI, 1964 (Carte 10).

Seule espèce à représenter le genre en France, *P. maximus* est un très grand nématode (adultes de 1 cm), qui se développe essentiellement dans les sols alluviaux très sableux. Les plaines bordant les embouchures et les lits des grands cours d'eau lui sont particulièrement favorables. Dans les sols lourds ses populations sont moins élevées et par là même moins dangereuses pour les cultures. Son aire est morcelée : Aquitaine, Loire, Seine, Rhin. Il est occasionnel dans la région méditerranéenne ; les localités les plus méridionales connues sont Sainte-Maxime et Grimaud (Var).

3. *Discussion sur la répartition des* Longidoridae *en France*

La multiplicité des climats et des sols font que la faune française des nématodes est particulièrement riche, notamment en ce qui concerne les *Longidoridae*. Les régimes climatiques conditionnés par les influences atlantique, continentale et méditerranéenne, marquent la répartition des espèces dans les différentes régions. Comme les *Xiphinema* et les *Longidorus* ont un cycle long et que tous les stades sont toujours présents, l'action du climat s'étend simultanément sur tous les âges du nématode et cela toute l'année durant. La température peut agir de multiples façons : par mortalité hivernale ou en entravant la reproduction, si par exemple la chaleur estivale est insuffisante (c'est surtout le cas pour les espèces méditerranéennes). L'intensité des précipitations annuelles et leur étalement saisonnier sont tout aussi déterminants ; quelques espèces comme *X. mediterraneum* ou *X. italiae* supportent des périodes de sécheresse, d'autres au contraire y sont sensibles. La conjonction de ces deux facteurs essentiels de l'environnement du nématode explique bien des distributions. La nature du sol intervient dans certains cas, c'est ainsi qu'à l'exception de *X. mediterraneum*, précisément l'un des plus petits en taille, la plupart des *Longidoridae* sont favorisés par les sols meubles et légers. Ceci ne les empêche obligatoirement pas de vivre aussi dans des sols argileux.

La faune édaphique est intéressante sur le plan de la bioclimatologie, en raison de sa faible mobilité qui entrave souvent son essaimage vers des milieux plus favorables. De ce fait, *Xiphinema* et *Longidorus* sont « prisonniers » de leur biotope (climat, sol, hôte). En raison de la très grande souplesse de leurs rythmes biologiques, ils peuvent se maintenir à l'extrême de leurs possibilités et survivre en dehors des zones qui constituent leur optimum. On conçoit alors qu'il est nécessaire de tenir compte de l'histoire des sols, lors des derniers millénaires et d'envisager comment ces nématodes ont pu surmonter les variations des climats et des flores qui se sont déroulées au Quaternaire et qui ont certainement eu des répercussions sur la faune des phytoparasites. Beaucoup de ceux-ci ont dû mourir sur place, en raison du froid et aussi à cause de la disparition de leurs hôtes. D'autres ont pu se trouver coupés de leurs conditions préférentielles et végètent sur des territoires plus ou moins étendus. L'ouvrage de Franck BOURDIER sur le bassin du Rhône au Quaternaire qui fait le point des connaissances sur les données botaniques et faunistiques de cette période, donne des bases fondamentales aux hypothèses que l'on peut avancer. Il est évident que dans ce domaine le nématologiste, gêné par l'absence de documents fossiles, doit être prudent. On peut cependant, tenir pour acquise, l'installation récente de la plupart des espèces méditerranéennes, dont notamment *X. index* et *X. mediterraneum*. Les aires actuelles de ces deux espèces permettent de définir les grandes directions d'invasion à partir du bassin méditerranéen. Il est possible, au moins pour la première espèce, que ce déferlement se soit réalisé à partir de quelques stations qui auraient constitué des refuges au moment des glaciations ; mais nous n'en avons aucune preuve. Ce qui est, par contre, certain, c'est que l'homme a largement contribué à ces avancées ; on en veut pour preuve la distribution de *X. index*, qui est en quelque sorte une espèce « domestique » et qui s'est propagé très au nord vers l'Anjou et vers la Bourgogne, l'Alsace et les bassins du Rhin et de la Moselle.

Quant à la « faune des sables », caractéristique des rivages méditerranéens avec *X. italiae*, *X. brevicolle*, *X. neovuittenezi*, *L. tarjani*, *L. laevicapitatus*, *L. taniwha*, sa présence doit être encore plus récente ; elle ne remonterait guère qu'à quelques siècles. Les espèces méditerranéennes seraient liées aux colonisations phénicienne, grecque et romaine et celles qui sont exotiques, aux trafics des navires négriers ou coloniaux. Il paraît exclu que des espèces subtropicales aient pu survivre, en France, depuis la fin du Tertiaire. Seul, peut-être, *X. mediterraneum*, qui est assez solidement implanté, pourrait avoir survécu sur une aire restreinte depuis cette époque. Il n'aurait commencé à acquérir ses caractères endémiques, dans le Midi, qu'à partir de la fin de l'âge du fer.

Ainsi, les glaciations quaternaires auraient laissé, après leur retrait, un vide qui n'est peut-être pas encore entièrement comblé et qui expliquerait notamment la pauvreté, en espèces, de cette famille dans les zones alpestres.

D'autres espèces qui avaient progressé dans le nord de la France, lors de l'avancée glaciaire, ont amorcé un recul laissant dans nos régions des aires disjointes et quelques peuplements isolés (*X. vuittenezi* ou peut-être même *L. elongatus*, *L. goodeyi* et *P. maximus*.)

Après le recul des glaciers et jusqu'à l'âge du cuivre, un climat plus doux et humide, favorisant l'établissement de vastes et épaisses forêts, a pu faciliter l'expansion de certaines espèces comme *L. macrosoma*, *L. profundorum*, *X. diversicaudatum*, qui sont descendues vers la Méditerranée à travers le couloir rhodanien, le Langue-

doc et la Provence. L'âge du bronze avec l'intensification de l'agriculture et la pratique du pâturage voit la destruction progressive de la forêt. Plus tard, à l'âge du fer, le dessèchement amorcé par la disparition de la forêt s'accentue. Les espèces atlantiques se seraient alors progressivement repliées vers l'ouest. Cependant, il ne faut pas trop exagérer ce mouvement, car ce retrait n'a pas dû être important et beaucoup d'îlots actuels sont vraisemblablement la conséquence d'introductions. Il ne s'agit là que d'une hypothèse, étant donné l'absence de tout document paléontologique, mais elle est des plus plausibles et il est vraisemblable que ces répartitions sont un reflet des influences climatiques actuelles et passées. Ces considérations mettent également en évidence les principaux facteurs déterminant la présence ou l'absence d'un nématode dans une station donnée. On voit que le climat a une influence prépondérante, mais qu'il ne faut pas négliger l'action de l'homme qui, par son industrie, peut modifier profondément et souvent de façon irréversible les conditions édaphiques. On s'aperçoit également que même des espèces peu transportables ont pu coloniser, grâce à lui, de nouvelles régions. Ces faits montrent bien le danger que représente toujours l'introduction incontrôlée de plantes en bacs, puisque des espèces sans importance économique au départ qui végètent dans des aires actuellement peu favorables, peuvent fortuitement regagner des zones où elles prolifèreront, parce que les conditions climatiques ou trophiques seront meilleures.

La connaissance parfaite de l'aire d'un parasite apporte une information précise quant à l'importance de son action et à l'évolution possible de celle-ci. Ainsi, *X. index* apparaît bien maintenant essentiel dans la transmission de la dégénérescence infectieuse de vigne à vigne, puisqu'il est relativement répandu en France, surtout dans les vignobles du Midi et le problème de son élimination doit être une préoccupation constante des praticiens.

Une dernière remarque concerne la répartition relative des *Xiphinema* et des *Longidorus*. Au premier abord, les *Xiphinema* semblent avoir une distribution plus groupée que les *Longidorus*, préférant notamment les vallées et les zones cultivées. Il ne s'agit vraisemblablement que d'une apparence résultant de la distribution particulière de deux espèces plus communes, dont la propagation a été favorisée par l'Homme. Avec les *Longidorus*, c'est le contraire qui se produit ; *L. profundorum* et *L. elongatus*, qui sont les plus fréquents sont des espèces de milieux naturels.

Dans l'ouest de l'Europe, les *Longidorus* abondent, surtout dans les régions septentrionales, mais là encore ce phénomène pourrait n'être le fait que de quelques espèces ou groupe d'espèces. Si l'on se rapporte à la notion de groupe (cf. DALMASSO, 1969), on remarquera qu'il existe, à cet échelon taxonomique, des aires plus vastes et que, par exemple, le groupe *X. americanum* est essentiellement méridional. Le caractère plus septentrional des *Longidorus* s'accentue en Afrique où ce genre est plus rare et les *Xiphinema*, au contraire, plus abondants. Les études de répartitions de groupes à l'échelle des continents devraient parfaire les connaissances sur la philogénie des *Longidoridae*, déjà améliorée par les études cytologiques. C'est un nouvel exemple de la complémentarité des études écologiques et systématiques et de la nécessité de les conduire simultanément.

Reçu pour publication en janvier 1970.

NB — La présente note constitue la partie essentielle d'une thèse de Doctorat d'État.

REMERCIEMENTS

Plusieurs collègues m'ont offert un concours très amical. Ils ont permis à ce travail d'avoir une ampleur intéressante par l'envoi d'échantillons qu'ils ont prélevés avec un soin toujours remarquable ; je tiens à le signaler et à les en remercier vivement, parmi eux : mes collègues zoologistes de l'I. N. R. A. : Mme Ricou (Rouen), M. Caubel (Rennes) et surtout M. Bouche (Dijon). Des collègues appartenant à d'autres disciplines de l'I. N. R. A. nous ont également beaucoup aidé : MM. Rives et Leclair (Viticulture, Pont-de-la-Maye), Boubals (Viticulture, Montpellier) et Vuittenez (Pathologie, Colmar). Enfin M. Cassat du C. E. T. A. de Saint-Émilion a contribué à un inventaire très complet de son secteur, avec l'enthousiasme rare du nématologiste amateur. Je dois également beaucoup à M. Ritter qui a guidé ce travail et a participé lui-même à plusieurs séries de prospections. Quelques techniciens ont collaboré successivement ou simultanément à l'ensemble de ce travail, ce sont : Mmes G. Lacombe, M. Risso, Mlle N. Gerbet et M. M. Bongiovanni.

SUMMARY

DIRECT INFLUENCE OF SOME ECOLOGICAL FACTORS ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY AND THE DISTRIBUTION OF THE FRENCH *LONGIDORIDAE* SPECIES.

General considerations on populations dynamic of *Xiphinema* and *Longidorus*, supported by observations on *X. mediterraneum*, are given. In natural conditions, the development time is very variable ; each stage has its own specific duration but it appears only in a fleeting mood in the real length imposed by environment. *Xiphinema* stage length may be, in the same biotope, some days as several months long. The average of each stage changes with biotopes. *Xiphinema* and *Longidorus* longevities reach usually some years. Observations on *X. mediterraneum*, in South of France, show that all stages are present all year long ; other european species of both genus have the same reaction. So, in spite of some slight seasonal variations, the physionomy of the population is often stable all year long, and its aspect, stage by stage, is caracteristic of the species and of the biotope or microbiotope. Young stages are abundant in ovoposition places even many months after reproduction period. That reproduction generally takes place during a short time (two or three months) and does not very much affect the dynamic that rather depends of development length.

It is also showed that, in South of France, *X. mediterraneum* is quiescent during the dry summer months. Quiescence is broken when hygrometry reaches again a suffisant level evaluated for one biotope.

Dates about the reproduction periods of different species are given. Attempts are made to explain that dynamic of populations. It appears that *Longidoridae* are mainly limited by climatic variations. On account of their poor spreading possibilities, many european species, set in theirs areas, may have been separated from their optimum and manage to hold in with more or less difficulties. That outlying far of suitable specific conditions may merely be spatial but it may also occur many centuries ago. Actual dynamic would result of no adaption of *Longidoridae* to variations of climates.

In the second part, relationships beetween plants and *Longidoridae* are analyzed. It seems that climatic factors may influence the nematode nutrition increasing or desincreasing the host range. Physiology of the vegetal is active on reproduction and development activities of these nematodes. New hosts are recorded ; so, *X. index* may severely damage *Jasminum officinale* and *populus* sp...

In the last part, distribution of all french species of *Longidoridae*, actually found, are described. Maps show the approximate areas as known at present.

The importance of climate, soil, plant and the story of the infected countries are discuted and 4 ecological groups may be distinguished : the atlantical species from West Europa, and more specially in England, Belgium and France as *L. profundorum, L. macrosoma, X. diversicaudatum* ; the continental species mainly represented by *X. vuittenezi* ; mediterranean by *X. index, X. italiae X. mediterraneum* ; and lastly some other species probably introduced recently as *L. laevicapitatus, L. taniwha, L. tarjani, X. brevicolle*,... Soils caracteristics are important for some species ; *X. mediterraneum* is not present in very sandy soil while *P. maximus* prefers alluvial soils. Many of the recently introduced species occur in Languedoc seeside where they compound a special fauna.

According to the opinion that a dry period had succeed to a cold and moist climate just after the ice-age, it is supposed that mediterranean species became their expansion since the bronze age. Northern limits of their area go through the France skirting along the high mountains. The atlantical species after a great development, which may take place beetween the glaciation time and the recent drying when a large forest was covering the country with a moist and fresh climate, began retiring. Only some isolated spots remain along mediterranean countries adding to their newly reintroduced populations. These moving back were realized towards west while that of *X. vuittenezi* was towards east.

Looking to the genus distributions, it appears, from the studied species, that *Longidorus* are more dispersed and more northern than *Xiphinema* as in other occidental european countries.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BOUBALS D., DALMASSO A., 1968. Résultats d'essais de désinfection de sols à vigne du sud de la France. *Progr. Agric. Vitic.*, **85** (2), 29-37.

BOURDIER F., 1962. *Le bassin du Rhône au Quaternaire.* 2 tomes, 364 + 293 p. C. N. R. S., Paris.

COHN E., 1969. The occurrence of distribution of species of *Xiphinema* and *Longidorus* in Israel. *Nematologica*, **15**, 179-195.

COHN E., MORDECHAI M., 1969. Investigation on the life and host preference of some species of *Xiphinema* and *Longidorus* ; under controlled conditions. *Nematologica*, **15**, 295-303.

DALMASSO A., 1969. Étude anatomique et taxonomique des genres : *Xiphinema*, *Longidorus* et *Paralongidorus*. (Nematoda : *Dorylaimida*). *Mémoires Museum hist. nat.*, Nouv. Série A ; Zool., Tome LXI, fasc. 2, p. 33-82.

DALMASSO A., CUANY A., 1969. Importance de la transmission par le sol de la « dégénérescence infectieuse » de la vigne dans l'Algérois. *Bull. Phytosanit. F. A. O.*, **17**, 58-60.

DALMASSO A., YOUNES T., 1970. Étude de la gamétogenèse chez *Xiphinema mediterraneum* (Nematoda: *Dorylaimida*). *Nematologica*, **16** (1), 51-54.

FISHER J. M., RASKI D. J., 1967. Feeding of *Xiphinema index* and *X. diversicaudatum*. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, **34** (1), 68-72.

FLEGG J.-J.-M., 1966. Once-yearly reproduction in *Xiphinema vuittenezi*. *Nature*, **213**, 741.

FLEGG J. J. M., 1968. Life cycle studies of some *Xiphinema* and *Longidorus* spp. in south eastern England. *Nematologica*, **14**, 197-210.

GRIFFIN G. D., DARLING H. M., 1964. An ecological study of *Xiphinema americanum* COBB, in an ornemental spruce nursery. *Nematologica*, **10**, 471-479.

HERDE J. D., VAN DEN BRANDE J., 1966. Verspreiding en bestrijding van *Xiphinema em Longidorus* spp. in aardbeien in Belgie. *Meded. Landb. Gent.*, **29**, 788-796.

HOOPER D. J., 1961. A redescription of *Longidorus elongatus* (DE MAN 1876), THORNE and SWANGER, 1936 (Nematoda : *Dorylaimidae*) and descriptions of five new sp. of *Longidorus* from Great Britain *Nematologica*, **6**, 237-257.

HOOPER D. J., 1965. *Longidorus profundorum* n. sp. (Nematoda : *Dorylaimidae*). *Nematologica*, **11**, 489-496.

LORDELLO L. G., Da COSTA C. P., 1961. A new nematode parasite of coffee roots in Brazil. *Rev. Brazil. Biol.*, **21**, 363-366.

LUC M., *et al.*, 1964. *Xiphinema vuittenezi* n. sp. (Nematoda : *Dorylaimidae*). *Nematologica*, **10**, 151-163.

KATCHO Z. A., N. ALLOW J., 1968. Dagger nematodes, *X. index*, on grapevine in Iraq. *Plant. dis, Report*, **52**, 626-627.

MARTELLI G. P., RASKI D. J., 1963. Osservazioni su *Xiphinema index* THORNE and ALLEN, fico e degenerazione infettiva della vite. *Inftore fitopatol.*, **13**, **19**, 416-420.

MARTELLI G. P., *et al.*, 1966. A redescription of *Xiphinema italiae* MEYL 1953 and its relationship to *Xiphinema arenarium* LUC and DALMASSO 1963, and *Xiphinema conurum* SIDDIQI 1964. *Nematologica*, **12**, 183-194.

MARTELLI G. P., LAMBERTI F., 1967. Le specie di *Xiphinema* COBB 1913 trovate in Italia e commenti sulla presenza di *X. americanum* COBB. *Phytopathol. mediter.*, **6** (2), 65-95.

MEYL A. H., 1953. Beitrage zur Kenntnis der Nematoden Fauna vulkanisch erhitzer Biotope mitt die tenokolen Nematoden um Bereich von Fumarolen auf des Insel. Ischia *Z. Morph. Ökol. Tiere*, **42**, 67-116.

NIGON V., 1949. *Les modalités de la reproduction sexuée et le déterminisme du sexe chez quelques nématodes libres.* Thèse Fac. Sci., Paris, 128 p.

NORTON D. C., 1963. Populations fluctuations of *Xiphinema americanum* in Iowa. *Phytopathology*, **53**, 1, 66-68.

PITCHER R. S., JHA A., 1961. On the distribution and infectivity with arabis mosaic virus of a dagger nematode. *Plant Pathol.*, **10**, 67-71.

PITCHER R. S., POSNETTE A. F., 1963. Vascular feeding by *Xiphinema diversicaudatum*. *Nematologica*, **9**, 300-304.

RADEWALD J. D., 1962. *The biology of* Xiphinema index *and the pathological of the* species *on grape*. Phil. Doct. Thesis. Univ. Calif., 59 p.

RADEWALD J. D., RASKI D. J., 1962. A study of the life cycle of *Xiphinema index*. *Phytopathology*, **52**, 8-748.

RITTER M., 1959. Contribution à l'étude des nématodes phytoparasites de la Tunisie. *Ann. I. R. A. T.*, 24 p.

SAROSPATAKI G. Y., *et al.*, 1968. (Presence of parasites nematodes of grapevines in the soil of hungarian vine districts with special consideration of virose-vector species). *Ann. Inst. Rech. Viti-vinicoles* Budapest, 135-150.

SCHINDLER A. F., 1957. Parasitism and pathogenicity of *Xiphinema diversicaudatum* an ectoparasitic nematode. *Nematologica*, **2**, 25-31.

SIDDIQI M. R., 1964. *Xiphinema conurum* n. sp. and *Paralongidorus microlaimus*. n. sp. with a key to the species of *Paralongidorus* (Nematoda ; *Longidoridae*). *Proc. Helm. Soc. Wash.*, **31**, 2, 133-137.

SCOTTO LA MASSESE C., 1961. *Aperçu sur les problèmes posés par les nématodes phytoparasites en Algérie*. In « Les Nématodes », A. C. T. A., Paris, 83-109.

STOYANOV A., 1964. (Contribution to the nematofa fauna of the grape vine). *Rastin. Zashita*, Moscow, **12**, 6, 16-24.

STURHAN D., VON, 1963. Der pflanzenparasitische Nematode *Longidorus maximus* seine Biologie und Ökologie mit Untersuchungen an *L. elongatus* und *Xiphinema diversicaudatum*. *Z. angew. Zool.*, **50**, 129-193.

STURHAN D., WEISCHER B., 1964. *Longidorus vineacola* n. sp. (Nematoda : *Dorylaimidae*). *Nematologica*,, **10**, 335-341.

TARJAN A. C., 1964. Two n. sp. American dagger nematodes (*Xiphinema : Dorylaimidae*) associates with citrus with comments on the variability of *Xiphinema bakeri* WILLIAMS 1961. *Helm. Abstr.*, **31**, 65-76.

TAYLOR C. E., *et al.*, 1966. An outbreak of Arabis mosaic and *Xiphinema diversicaudatum* (MICOLETZKY) in Scotland. *Plant Pathol.*, **15**, 170-174.

TERLIDOU M., 1967. Nematodes attacking grapevines and their control. *Vine Inst. Lykovryssi. Kiffisias*, Grece, 106 p.

THORNE G., 1939. A monograph of the nematodes of the superfamily *Dorylaimidea*. *Capita Zool.*, **8**, 5, 261 p.

THORNE G., ALLEN M. W., 1950. *Paratylenchus hamatus* n. sp. and *Xiphinema index* n. sp. two nematodes associated with fig roots with a note on *Paratylenchus anceps* COBB. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, **17**, 27-35.

VUITTENEZ A., LEGIN R., 1964. Recherches sur les vecteurs naturels de la dégénérescence infectieuse, confirmation de la transmission du virus par *Xiphinema index* et de l'activité parasitaire de ce nématode sur la vigne. *C. R. Acad. Agric.*, **50**, 286-304.

WEISCHER B., 1966. Ein Beitrag zur geographischen Verbeitrung und Ökologie von arten der Gattungen *Xiphinema* und *Longidorus*. *Mitt. biol. Bundesanst. Land-u. Forstwirtsch.*, **118**, 100-106.

WEINER B., RASKI D. J., 1966. New host records for *Xiphinema index* THORNE and ALLEN 1959. *Plant Dis. Report.*, **50**, 27-28.

Ann. Zool. Écol. anim., 1970, **2** (2), 201-235.

ÉTUDE DE LA RADIOSENSIBILITÉ DE L'EMBRYON DE *BOMBYX MORI* L. DANS SES RELATIONS AVEC LA DIAPAUSE

P. TEULADE

Laboratoire de Biométrie,
Section de Biologie générale et appliquée,
Faculté des Sciences de Lyon, 43 bd du 11-Novembre-1918, 69 - Villeurbanne

RÉSUMÉ

Les expériences effectuées sur l'effet des radiations sur l'embryon de *Bombyx mori* ont permis de mettre en évidence les points suivants :

1. La diapause comprend une *phase dure* possédant un optimum à basse température, et une *phase résiduelle* ayant un optimum à la température d'incubation.
2. La prolongation de l'hivernation entraîne un « vieillissement » des embryons.
3. Les embryons sans diapause passent successivement par quatre phases de radiosensibilité. En particulier, au début du développement la sensibilité croît avec l'âge.
4. La diapause est une phase radiorésistante.
5. Le froid aggrave l'effet des rayonnements.
6. La mortalité, pour une dose donnée, augmente avec le vieillissement par suite d'une diminution des capacités de restauration.

Toutes conditions égales par ailleurs, l'effet global d'une irradiation est la résultante de deux processus opposés : un processus de destruction dû aux rayonnements, un processus de restauration dû à la réaction de l'organisme considéré. J'appellerai effet propre le premier processus, lié à la sensibilité propre de l'être vivant : cet effet est celui que l'on observerait en l'absence de restauration.

La connaissance des relations entre ces deux processus est d'une importance fondamentale en radiobiologie. Une voie d'approche intéressante est l'analyse de leurs variations relatives au cours du développement. J'ai choisi à cette fin l'embryon de *Bombyx mori* en raison de la présence d'une phase au métabolisme très particulier, la diapause (TEULADE, 1966).

I. — MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Au cours de ce chapitre après avoir rapidement exposé les techniques utilisées, j'étudierai la physiologie des embryons tout spécialement dans ses rapports avec la diapause et la durée d'hivernation.

I. — Techniques

A. — *Techniques d'irradiation*

La plupart des expériences sont effectuées à l'aide d'un générateur de rayons X du type Stabilipan, dont le voltage maximal est de 200 kV, l'intensité de 20 mA.

La dosimétrie est réalisée avec une chambre d'ionisation Victozeen.

Les conditions d'irradiation sont les suivantes : 80 kV, 12 mA, filtre Al 2 mm, distance à l'anticathode, 35 cm, le débit de dose étant alors de 48 R/mn. La température ambiante est de l'ordre de 25°C.

Pendant le traitement les œufs sont placés dans des boîtes en matière plastique de 25 mm de diamètre.

B. — *Mesure des effets de l'irradiation*

J'ai retenu comme critère la durée de développement embryonnaire et la mortalité.

La durée de développement ne peut être rigoureusement définie que pour les embryons ne présentant pas de diapause : c'est la durée qui s'écoule entre la ponte et l'éclosion. Pour les embryons à diapause, la durée de développement est comptée entre la sortie du réfrigérateur et le moment de l'éclosion. Elle ne mesure donc pas la totalité du développement, mais seulement le développement dit de post-diapause : elle constitue la durée apparente de développement.

La durée moyenne est choisie comme rendant le mieux compte des variations. Elle peut être complétée dans certains cas par l'étude de la variance.

Après la ponte, où à la sortie du réfrigérateur, les œufs sont placés dans une étuve où règnent les conditions suivantes : température 22°C, humidité relative 80 p. 100, photopériode artificielle : 14 heures d'éclairement, 10 heures d'obscurité. La mise en incubation a toujours lieu le matin entre 8 et 9 heures. L'éclosion étroitement liée au rythme nycthéméral a lieu peu après le début de l'éclairement de sorte que le contrôle des naissances journalières est fait en fin de matinée.

La mortalité est mesurée par le pourcentage d'œufs non éclos, sur le nombre total d'œufs fertiles, les œufs stériles n'entrant pas dans le décompte.

Pour faciliter la lecture des résultats, j'utilise parfois la mortalité corrigée :

$$p = \frac{p_i - p_t}{100 - p_t} \times 100$$

où p est le pourcentage de mortalité corrigée
p_i le pourcentage de mortalité des œufs irradiés
p_t le pourcentage de mortalité des œufs témoins

La mortalité corrigée peut être négative.

Les expériences, comportant généralement trois répétitions, sont de ce fait justiciables de l'analyse de variance. Dans les autres cas, les comparaisons sont réalisées à l'aide d'un test ε, les effectifs étant toujours suffisamment élevés. Afin de simplifier la présentation, je n'ai placé aucun calcul statistique dans ce texte. Les tests n'en ont pas moins été effectués et le mot significatif est toujours employé dans son acception statistique.

II. — Matériel biologique

Je donnerai tout d'abord quelques indications bibliographiques sur le développement embryonnaire de *Bombyx mori*.

Deux à trois heures après la ponte, le noyau est formé par fusion des pronucléi. Dès lors, les divisions se succèdent activement. Les noyaux fils donnant naissance au blastoderme à partir duquel se différencient la bandelette germinative et les enveloppes protectrices.

Pour les œufs sans diapause, l'embryogenèse se poursuit jusqu'à l'éclosion de la jeune chenille. Dans le cas des œufs à diapause la croissance s'arrête au stade de la bandelette germinative, l'embryon entrant en diapause pour plusieurs mois. La croissance reprend, une fois la diapause éliminée, et conduit à l'éclosion.

Le déterminisme de la diapause dépend à la fois du génotype des parents et des conditions subies par la mère au cours de son développement.

Les plus utilisées sont les races monovoltines qui ne donnent qu'une génération annuelle et les races bivoltines qui en donnent deux moyennant un traitement approprié.

Bien que la physiologie de la diapause de *Bombyx mori* soit encore imparfaitement connue, on considère classiquement comme acquis les points suivants.

La diapause s'accompagne d'un arrêt total de la morphogenèse.

Le métabolisme de la diapause est très bas et se caractérise essentiellement par une vitesse optimale à basse température.

La consommation d'oxygène est très faible de même que le quotient respiratoire ; parallèlement, les enzymes d'oxydo-réduction ont une activité très réduite.

On peut prévenir l'installation de la diapause en traitant les œufs de façon précoce (généralement vingt heures après la ponte à 25°C) à l'acide chlorhydrique concentré. Par contre, une fois qu'elle est installée, on ne peut l'éliminer que par un traitement de longue durée à basse température (hivernation).

Depuis quelques années des études morphologiques et biochimiques ont apporté d'intéressantes précisions.

Les observations de Takami (1957) montrent que la diapause devient complète (« full diapause ») seulement au bout d'une vingtaine de jours.

Durant ce laps de temps l'embryon ne présente aucune modification, mais les cellules vitellines migrent vers la périphérie. Si les œufs sont placés à basse température avant la fin de cette période, la diapause n'est jamais complète.

Chino (1960, 1961, 1963) a mis en évidence une transformation progressive du glycogène en glycérol et sorbitol au cours des trois premières semaines. La réaction inverse, glycérol + sorbitol → glycogène, précède la fin de la diapause. Le même

auteur a mis en évidence les enzymes correspondants, cependant ceux-ci sont présents de la même façon chez les œufs sans diapause. Il pense que cette réaction dépend des équilibres :

$$NAD^+ \rightleftarrows NADH$$
$$NADP^+ \rightleftarrows NADPH$$

ISHIKAWA (1966) qui a noté une importante modification de cet équilibre dès la fin du traitement à l'HCl, a montré que la transformation du glycogène en glycérol et sorbitol ne pouvait s'expliquer par une modification de ces équilibres.

Ces divers résultats conduisent à admettre que la diapause est un état physico-chimique particulier, intervenant de façon très précoce (sans doute autour de la vingtième heure, le traitement à l'HCl avant ce moment provoquant une forte mortalité) et entraînant un arrêt du développement.

CHINO (communication personnelle) se fondant sur ses propres travaux et sur des observations au microscope électronique de OKADA (non publiées) pense que cet état provient d'une modification de la perméabilité des membranes mitochondriales. Les rapports globaux $NAD^+/NADH$ et $NADP^+/NADPH$ ne seraient pas modifiés très sensiblement (ce qui est conforme aux résultats d'ISHIKAWA, lequel opère sur des broyats), par contre, ces mêmes rapports seraient très différents à l'intérieur et à l'extérieur des mitochondries. La réaction, glycogène → glycérol + sorbitol, en serait favorisée.

L'élimination de la diapause serait alors le retour à la « normale » des membranes des mitochondries.

Une fois la diapause éliminée, l'embryogenèse reprend si les œufs sont mis en incubation. On peut la bloquer en maintenant les œufs à basse température et modifier ainsi les conditions physiologiques de l'embryon (CUBELLS, 1955 ; TEULADE, 1963).

J'ai utilisé essentiellement deux races de Vers à soie, une race française fortement monovoltine (type 200/300 des Établissements Roustan) et une race originaire du sud de l'Asie, la race Daizo au caractère bivoltin très accusé.

En outre, au cours de certaines expériences effectuées à l'Institut national de Génétique de Misima (Japon) (1), j'ai employé deux races standard japonaises : les races C 108 et P 22, toutes deux bivoltines.

A. — *Étude de la diapause*

La diapause est plus ou moins forte suivant les lignées, comme elle n'est éliminée que par un séjour prolongé à basse température, il est logique de mesurer *l'intensité de la diapause* par la durée minimale d'hivernation nécessaire à l'obtention d'un taux d'éclosion normal (> 95 p. 100).

J'ai été ainsi conduit à étudier les variations de la mortalité et de la durée de développement dans les deux lignées choisies.

(1) Les conditions d'irradiation étaient alors, 180 kV, 25 mA, Al 1 mm, distance 40 cm, débit 300 R/mm température 28-30°C.

1. *Monovoltins.*

Ces œufs, fournis par la Station séricicole d'Alès, proviennent soit d'un élevage de printemps (mai-juin), soit d'un élevage d'automne (septembre-octobre).

a) *Élevage de printemps.*

Dès la ponte les œufs sont maintenus à la température ambiante (de l'ordre de 22° à 25°C) pendant six mois, puis fin décembre ou début janvier ils sont placés à la chambre froide (3,5 ± 0,5°C).

Après des durées croissantes d'hivernation, les œufs sont mis en incubation. Les résultats (tabl. 1) montrent que la mortalité atteint un palier minimal au bout de deux mois, alors qu'il en faut quatre pour la durée de développement (à 22°C la durée de développement normale est de 14,0 à 14,5 jours). Cette différence entre les deux caractères se retrouve constamment.

TABLEAU I

Variations de la mortalité et de la durée de développement avec l'hivernation (élevage de printemps).

Hivernation (j.)	Mortalité p. 100	Int. de confiance (1)	Durée de développement (jours)	Int. de confiance (1)
39	16,3	12,3-20,3	23,5	22,7-24,3
61	3,4	1,4- 5,4	18,9	18,5-19,3
91	3,0	2,1- 3,9	15,5	15,3-15,7
96	4,4	2,9- 5,9	15,3	15,1-15,5
123	3,6	2,5- 4,7	14,1	14,0-14,2

(1) Les limites de l'intervalle de confiance sont données au seuil 5 %, seuil de signification adopté dans le présent mémoire.

b) *Élevage d'automne.*

Les œufs étant obtenus en octobre, il n'est pas possible d'utiliser une estivation aussi longue, aussi est-elle généralement réduite à deux mois et demi. Le tableau 2 montre que mortalité et durée de développement varient comme pour les élevages de printemps, à cela près que la durée d'hivernation correspondant aux deux paliers est accrue : la diapause n'est pas totalement éliminée après 146 jours de froid.

Toutes les observations effectuées montrent que la diapause est plus intense pour les œufs d'automne. On peut être tenté d'attribuer cette différence à la durée d'estivation, plus faible dans le deuxième cas. Les expériences de CUBELLS (1955) prouvent en effet que l'estivation joue un rôle non négligeable dans l'élimination de la diapause. Il est vraisemblable que les conditions d'élevage sont également très importantes.

TABLEAU 2

Variations de la mortalité et de la durée de développement avec l'hivernation
(élevage d'automne)

Hivernation (j.)	Mortalité p. 100	Durée de développement (jours)	Variance	Durée de développement + hivernation (jours)
22	72,8	238	41	260
29	69,6	203	78	232
35	67,7	143	88	178
43	57,9	87	70	130
50	40,2	57	45	107
56	22,1	43,4	31	99,4
71	3,0	25,5	5,5	96,5
82	0,9	22,4	3,2	104,4
96	3,3	21,3	1,8	117,3
124	2,5	16,9	1,2	140,9
146	2,6	15,2	1,0	161,2

La mesure de l'intensité de diapause que je propose ne tient pas compte du rôle de l'estivation dans l'élimination de la diapause. Comme il n'est ni très facile ni très intéressant de maintenir constante la durée d'estivation, je considérerai cette durée comme un des facteurs agissant sur l'intensité de la diapause.

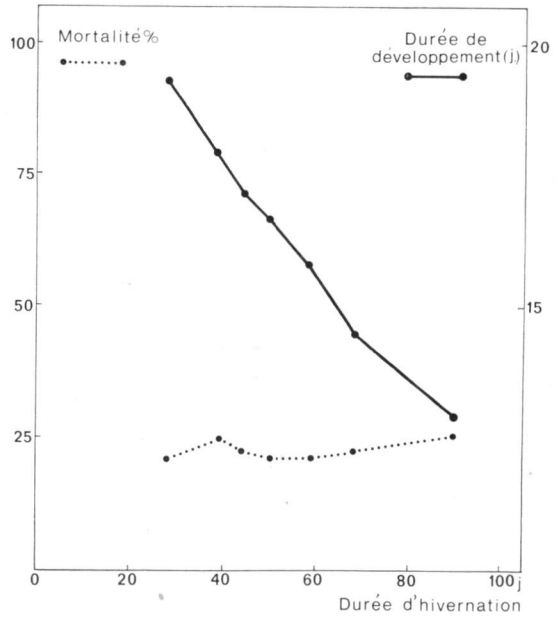


FIG. 1. — *Variations de la mortalité et de la durée de développement en fonction de la durée d'hivernation des œufs bivoltins de deuxième génération.*

2. *Œufs bivoltins.*

Ces œufs, provenant d'élevages réalisés au laboratoire, présentent généralement une diapause faible et restent durant cette période très sensibles aux conditions d'ambiance : pendant l'estivation, une humidité relative insuffisante entraîne une mortalité élevée. Par ailleurs, le seul fait de les laver, quel que soit le moment où intervient cette opération, augmente la mortalité (LOMBARDI, 1955).

La figure 1 représente les variations de la durée de développement et de la mortalité avec la durée d'hivernation. La mortalité reste toujours très élevée parce que ces œufs ont été lavés et aussi, sans doute, en raison d'une hygrométrie insuffisante durant l'estivation. Après 30 jours d'hivernation la mortalité ne diminue plus, il en va de même pour la durée de développement après 90 jours. Ces deux caractères varient donc comme chez les monovoltins, indiquant simplement une diapause plus faible.

3. *Interprétation.*

L'analyse des variations des deux caractères, pourcentage de mortalité et durée de développement, en fonction de la durée d'hivernation, m'a conduit à formuler les deux hypothèses suivantes (TEULADE, 1963, 1964).

a) Il existe dans la diapause deux phases distinctes : une « phase dure » qui ne peut être éliminée qu'à basse température et une « phase résiduelle » qui peut s'éliminer à la température d'incubation. Cette hypothèse peut se fonder sur les travaux de CHINO (1960, 1961, 1963). La phase dure correspondrait à la période où l'œuf contient du glycérol et du sorbitol ; durant la phase résiduelle interviendraient les modifications physiologiques nécessaires à la reprise de l'embryogenèse normale (synthèse du glycogène à partir du glycérol et du sorbitol, synthèse ou activation des enzymes d'oxydoréduction par exemple).

Si on accepte l'hypothèse de CHINO sur l'état de diapause, pendant la phase dure les membranes mitochondriales ont une structure particulière. Cette structure ne peut redevenir normale qu'après un séjour prolongé à basse température. La phase résiduelle correspond aux réactions rendues possibles par le retour à la normale de la perméabilité des membranes.

b) Tant que la diapause résiduelle n'a pas été éliminée à basse température, elle doit l'être à la température d'incubation *avant que ne reprenne la morphogenèse.* La durée apparente de développement recouvre donc deux phénomènes distincts.

Une fois la partie dure éliminée, l'embryon peut se développer à la température d'incubation ; lorsque tous les embryons se trouvent à ce stade, la mortalité est minimale. Par contre, il faut encore que la phase résiduelle s'élimine à la température d'incubation ce qui entraîne une durée de développement apparente élevée. Cette durée diminue avec l'hivernation jusqu'au moment où la diapause est totalement éliminée à basse température pour tous les œufs.

Afin de vérifier ces hypothèses, j'ai placé à l'étuve des œufs ayant subi de très courtes durées d'hivernation (cf. tabl. 2). La mortalité est élevée, cependant nombre d'œufs éclosent, au bout d'un temps variable mais toujours long : j'ai observé des éclosions après dix mois d'incubation. Les chenilles ainsi obtenues, élevées, se sont développées à la vitesse habituelle et ont donné des adultes normaux. Cette consta-

tation paraît indiquer que l'embryogenèse proprement dite est peu affectée dans son déroulement, le très grand allongement de la durée de développement provenant de la phase d'élimination de la diapause.

Par contre, le fait que les œufs puissent éclore après de très faibles durées d'hivernation semble infirmer l'hypothèse d'une partie dure. La diapause pouvant être éliminée durant l'incubation il est logique, pour étudier la durée du développement, de lui ajouter la durée préalable d'hivernation. On constate alors (tabl. 2) que la durée ainsi définie décroît rapidement pour atteindre un minimum après 71 jours d'hivernation, puis augmente à nouveau. Il est remarquable en outre que ce minimum corresponde au moment où est atteinte la mortalité minimale.

L'hypothèse émise au sujet de la « phase dure » reste valable à cela près que durant cette phase, la diapause peut s'éliminer, pour partie tout au moins, à température élevée mais de façon lente. Le froid favorise et accélère l'élimination de la phase dure de la diapause.

LEGAY (1962) a noté que le fait que le métabolisme de diapause présentait un optimum à basse température. Les résultats obtenus confirment cette observation en ce qui concerne la phase dure de la diapause. Par contre, pour la diapause résiduelle l'optimum se situe à la température d'incubation, puisque la durée « hivernation + incubation » augmente au cours de cette phase. La phase dure correspond à la diapause au sens strict, la phase résiduelle à la période d'initiation de développement au sens de LE BERRE (1957).

B. — *Conservation au froid après élimination de la diapause*

Si le pourcentage de mortalité diminue tout d'abord avec l'hivernation, il augmente à nouveau pour des durées d'hivernation importantes. J'ai appliqué à cette période la méthode précédente. Les résultats d'une des séries expérimentales sont donnés dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Variations de la mortalité et de la durée de développement lors d'une conservation prolongée à basse température

Hivernation (jours)	Mortalité (%)	Durée de développement (jours)
196	8,9	14,6
213	12,1	14,7
233	15,4	—
275	22,3	14,6
317	35,4	15,0
378	73,7	15,6
400	87,6	16,7
421	92,8	17,6
469	100,0	—

La mortalité croît assez lentement tout d'abord, puis beaucoup plus rapidement après 300 jours de froid. La durée de développement reste constante un certain temps, et augmente après 300 jours de froid. Comme pendant la diapause, il y a un très net décalage entre les deux phénomènes. Ce fait s'observe dans toutes les séries expérimentales. On le retrouve aussi chez les bivoltins, le phénomène étant alors accéléré.

J'ai appelé *vieillissement* cette diminution progressive de la capacité d'éclore. En effet, si l'on porte en fonction de la durée t d'hivernation le logarithme du pourcentage de mortalité x on obtient la droite d'équation :

$$\log x = 0{,}004\,6t + 0{,}087$$

Le coefficient de corrélation correspondant est égal à 0,947, ce qui indique une liaison très forte entre log x et t. La relation entre x et t est donc exponentielle :

$$x = 1{,}221\ e^{0{,}010\,58t}$$

GOMPERTZ a proposé pour décrire les relations entre mortalité et âge de l'organisme, c'est-à-dire le vieillissement, une équation de la forme :

$$R_t = R_0\, e^{at}$$

R_t : mortalité (p. 100) à l'instant t

R_0 : mortalité (p. 100) à l'instant t_0

La relation mortalité-durée d'hivernation est donc de même nature que les relations traduisant le vieillissement. Cependant, il existe des différences importantes entre ces deux phénomènes et pour éviter toute ambiguïté, j'utiliserai le terme de *conservation prolongée au froid* (cold-storage).

Le vocable d'hivernation recouvre en réalité deux phénomènes différents. Pendant la diapause, le froid contribuant à une élimination rapide joue un rôle favorable. Ensuite, le maintien à basse température a pour seul effet d'inhiber, tout au moins de freiner fortement, le déroulement normal de la morphogenèse et ce faisant il devient plus ou moins rapidement défavorable. La phase résiduelle constitue une période intermédiaire ne dépendant de la température que pour sa durée.

Pour mieux analyser les variations de la durée apparente de développement, il est nécessaire d'étudier les modalités de l'éclosion.

C. — *Forme des courbes d'éclosion*

Les éclosions, étroitement liées au rythme nycthéméral, interviennent peu après le lever du jour (ou le début de la photopériode), et s'échelonnent sur deux heures environ. Si le développement de tous les embryons était parfaitement synchrone, les éclosions auraient lieu toutes le même jour, cela se produit dans certains cas, en particulier pour les embryons sans diapause. Dans la plupart de mes expériences cependant il n'en va pas de même et plusieurs jours sont nécessaires.

Les courbes d'éclosion, obtenues en portant en abscisse le nombre de jours d'incubation et en ordonnée le pourcentage direct (ou cumulé) correspondant, représentent le plus ou moins grand degré d'asynchronisme dans le développement embryonnaire. Leur étude est particulièrement importante pour l'interprétation des variations de radiosensibilité avec le développement embryonnaire.

1. *Éclosion après une hivernation normale.*

J'entends par normale une hivernation de durée telle que la mortalité et la durée de développement soient toutes deux minimales. Cela correspond pour des monovoltins à une hivernation de quatre à six mois. La figure 2 représente les courbes obtenues dans de telles conditions. Plus de 80 p. 100 des éclosions interviennent en trois jours, les autres s'échelonnent sur une semaine. Il y a une très nette dissymétrie, les dernières larves *traînent*.

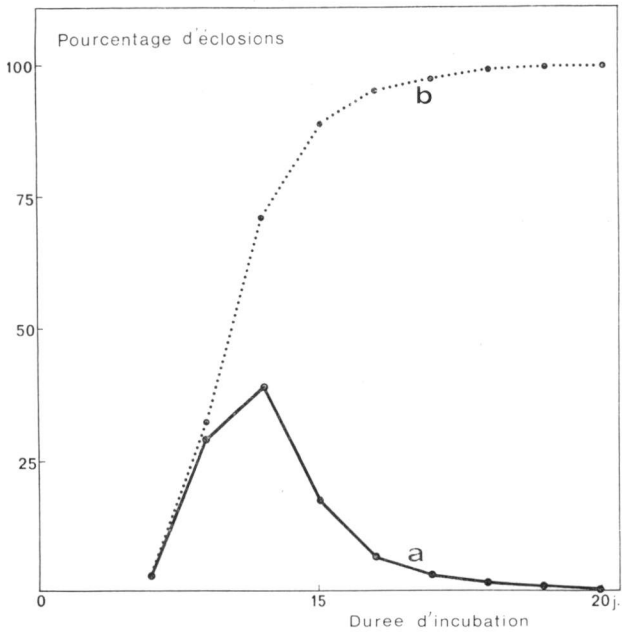


FIG. 2. — *Courbes d'éclosions, directe* (a) *et cumulée* (b), *obtenues avec des œufs monovoltins ayant subi six mois d'estivation et quatre mois d'hivernation.*

Dans le cas des générations sans diapause, les éclosions interviennent en deux jours, 80 à 90 p. 100 ayant lieu le premier jour. Parfois, toutes les éclosions ont lieu le même jour.

2. *Variation avec la durée d'hivernation.*

La figure 3 montre les courbes d'éclosion obtenues après les durées d'hivernation variables.

Les courbes (*b*) et (*c*) sont très voisines, le maximum d'éclosion intervenant le 14e jour ; la deuxième est toutefois un peu plus aiguë. Ces courbes sont cependant obtenues respectivement après 124 et 322 jours d'hivernation. L'expérience montre que les variations durant cette période sont très faibles.

La courbe (*d*) est de forme assez proche des précédentes, mais elle présente un maximum décalé d'un jour vers la droite.

La courbe (*a*), par contre, est très différente, le maximum est moins net, la courbe étant beaucoup plus étalée. L'augmentation de la durée moyenne après une longue

hivernation est due essentiellement à un retard des premières éclosions, l'ensemble restant assez groupé. Après une hivernation courte les éclosions débutent sensiblement comme après une hivernation normale, par contre, elles sont plus dispersées dans le temps. Cependant, si la durée d'hivernation est trop faible, les premières éclosions sont nettement retardées et la variance élevée.

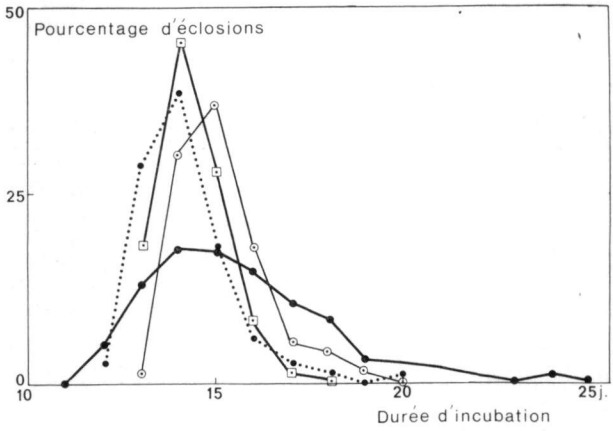


FIG. 3. — *Courbes d'éclosions directes obtenues avec des œufs monovoltins ayant subi des durées croissantes d'hivernation.*

a) 91 j
b) 124 j
c) 322 j
d) 354 j

Lorsqu'on traite des œufs monovoltins par l'acide chlorhydrique pour éviter l'installation de la diapause les éclosions sont très groupées. Il est donc vraisemblable que le facteur de variabilité essentiel est dû à la diapause. Cette dernière dépend du génotype des parents et des conditions dans lesquelles ils ont été élevés. Il y a de légères différences d'une ponte à l'autre. De ce fait, lorsqu'on met en incubation des œufs encore en diapause, ils se trouvent dans des états différents. Tant que la partie dure n'est pas totalement éliminée, la variabilité est accrue en raison du ralentissement dû à la haute température. Par la suite, la variabilité diminue, la diapause résiduelle s'éliminant plus vite à haute température (tabl. 2). La variance devient minimale lorsque toute diapause a disparu, les processus de morphogenèse eux-mêmes ayant une faible variabilité.

Les mêmes résultats sont obtenus à partir des bivoltins, à cela près que les éclosions sont plus groupées.

L'étude des courbes d'éclosion confirme donc indirectement les hypothèses émises pour interpréter les variations de la durée de développement.

D. — *Conclusion*

L'étude des variations de la mortalité et de la durée de développement, complétée par celle des courbes d'éclosion, permet de mieux connaître le phénomène de la dia-

pause. Cet état est éliminé par un séjour prolongé au froid, séjour dont la durée varie avec la race et les conditions d'élevage des parents. La diapause peut donc être plus ou moins intense.

L'interprétation des résultats conduit à formuler les deux hypothèses suivantes :

— la diapause se divise en deux parties, une phase dure qui s'élimine mieux et plus vite à basse température ; une phase résiduelle dont l'élimination peut se faire à une température quelconque, bien qu'elle soit plus rapide à haute température. La séparation entre ces deux phases correspond sans doute au retour à la normale des membranes des mitochondries ;

— l'incubation peut recouvrir deux phases distinctes. Si la diapause n'a pas été totalement éliminée à basse température, elle doit l'être pendant l'incubation avant que ne puisse reprendre la morphogenèse. Cette première phase est responsable de la très grande variabilité des éclosions observée après des hivernations insuffisantes, le déroulement de la morphogenèse étant, quant à lui, soumis à de faibles variations. Il n'y a pas superposition entre diapause et hivernation. Le froid joue un rôle favorable pendant la diapause. La conservation à basse température au-delà de ce stade freine fortement la reprise normale de l'embryogenèse, devenant ainsi néfaste. Il en résulte une augmentation progressive de la mortalité puis de la durée de développement.

II. — VARIATIONS DE LA SENSIBILITÉ AUX RAYONS X AVEC LE DÉVELOPPEMENT

Pour mettre en évidence l'effet de la diapause sur la radiosensibilité, il est indispensable de comparer les variations de sensibilité des œufs à diapause à celle des œufs sans diapause. Je traiterai tout d'abord de ces derniers.

I. — Développement des œufs sans diapause

Pour obtenir un développement continu des embryons, on peut soit utiliser la génération sans diapause des bivoltins, soit prévenir l'installation de la diapause par un traitement approprié à l'acide chlorhydrique.

A. — *Génération sans diapause des œufs bivoltins*

Le problème majeur est celui de la synchronisation du développement des embryons. En effet, la femelle commence à pondre dans la soirée et continue tout ou partie de la nuit, la durée de la ponte étant très variable suivant la race et les individus. Les œufs ainsi recueillis sont donc d'âges différents et incertains. Dans un premier temps, j'ai réduit cet intervalle à deux heures. J'ai obtenu ainsi les résultats consignés dans le tableau 4.

La mortalité croît pendant les deux ou trois premiers jours du développement, reste très élevée puis décroît rapidement vers les cinquième ou sixième jours ; elle est ensuite très faible.

TABLEAU 4

Variation de la mortalité corrigée avec la dose et le stade de développement pour les œufs sans diapause (élevage de juin)

Age (heures)	Dose			
	500	1 000	2 000	3 000
12	4,9	13,4	40,0	86,5
36	2,2	9,8	96,0	100,0
60	1,6	13,2	100,0	100,0
84	1,9	5,5	76,8	99,4
108	2,2	4,4	28,7	92,9
132	—	—	3,5	5,0

Toutes les expériences montrent une augmentation de la mortalité au cours des deux à trois jours qui suivent la ponte. L'étude de la durée de développement confirme ce schéma de variation.

TABLEAU 5

Variation de la mortalité avec la dose et le stade de développement pour des œufs sans diapause (C 108)

Age (heures)	Dose							
	500	1 000	1 500	2 000	3 000	4 000	6 000	8 000
2	14,7	41,0	69,0	71,4	90,0			
42	10,6	69,2	100	100	100			
49	15,0	67,8	100	100	100			
66	9,7	82,6	100	100	100			
90	5,0	17,6	48,7	94,4	100			
114	—	4,4	—	5,2	4,9	14,5	54,8	
138	—	—	—	3,3	2,4	2,7	4,0	
192	—	—	—	2,7	—	4,2	1,2	4,4
216	—	—	—	2,0	—	1,8	1,2	1,0

MURAKAMI a mis au point une méthode permettant d'obtenir de grandes quantités d'œufs en 10 à 15 minutes et il a bien voulu me la communiquer. Durant mon séjour à l'Institut national de Génétique de Misima, j'ai pu préciser ces résultats en opérant sur une race commerciale courante la race C 108, bivoltine (tabl. 5).

Si l'absence accidentelle de données pour les stades jeunes ne permet pas de confirmer l'augmentation de sensibilité, le haut degré de synchronisation entraîne une diminution extrêmement rapide de la sensibilité vers le cinquième jour, à laquelle succède une phase très résistante.

B. — *Œufs traités à l'acide chlorhydrique*

On sait prévenir l'installation de la diapause, en traitant les œufs jeunes par l'acide chlorhydrique concentré : les résultats d'une expérience effectuée dans ces conditions avec des œufs de race P 22 concordent de façon remarquable avec ceux obtenus pour la génération sans diapause (fig. 4 et 5).

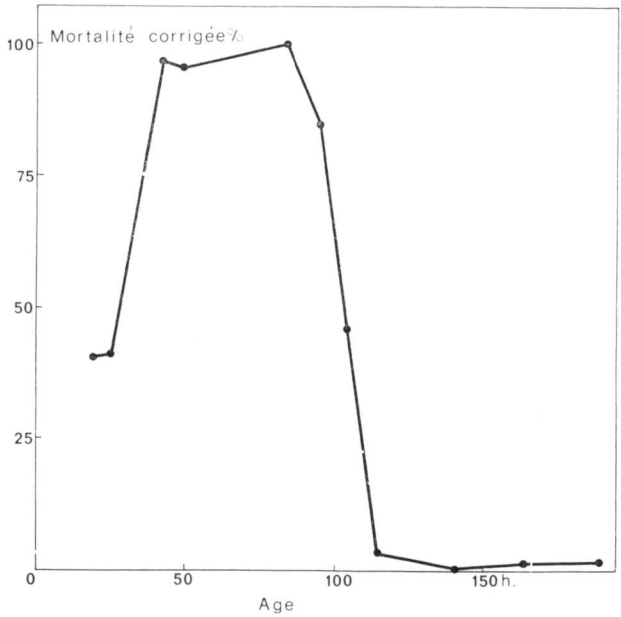


FIG. 4. — *Variations de la mortalité corrigée à 200 R en fonction de l'âge pour des embryons sans diapause* (traitement à l'HCl).

Il est intéressant de signaler que le traitement à l'acide chlorhydrique n'a aucune influence sur l'effet d'une irradiation intervenant juste auparavant.

C. — *Conclusion*

On peut distinguer quatre phases distinctes de la radiosensibilité au cours du développement des embryons sans diapause.

— La phase 1, qui se termine vers quarante heures à 25°C, est caractérisée par une augmentation rapide de la sensibilité ; elle paraît correspondre au début de la différenciation et en particulier à la mise en place de la bandelette germinative.

— La phase 2 dure de la fin du deuxième jour à la fin du cinquième jour ; la sensibilité varie peu et reste très élevée. Ce plateau qui s'achève par la blastocinèse recouvre la période de différenciation des principaux organes, du système nerveux notamment.

— La phase 3, marquée par une diminution très rapide de la mortalité (la DL 50 passe de 1 500 à 6 000 R en moins de vingt quatre heures) débute vraisemblablement avec l'achèvement de la blastocinèse.

— La phase 4, très résistante (la DL 50 reste très supérieure à 8 000 R), correspond à la croissance des organes différenciés au cours de la phase 2.

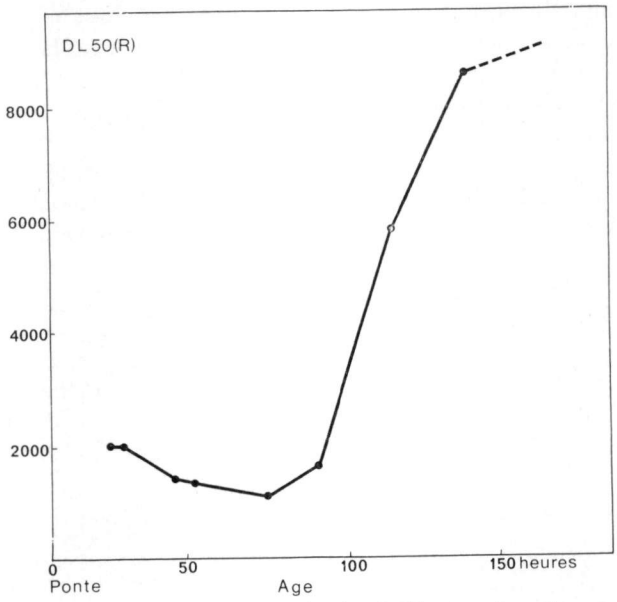


FIG. 5. — *Variation de la DL 50 estimée en fonction de l'âge pour des embryons sans diapause* (traitement à l'HCl).

Suivant la dose utilisée et le degré de synchronisation des œufs, les différentes phases sont plus ou moins marquées, en particulier la phase 2 qui semble parfois disparaître. Cependant, ce découpage est très commode sur le plan descriptif, notamment pour exposer l'influence de la diapause.

II. — DÉVELOPPEMENT DES ŒUFS A DIAPAUSE

L'embryogenèse présente alors trois stades :

— développement depuis la ponte jusqu'au stade bandelette germinative,

— diapause,

— reprise de l'embryogenèse lors de la mise en incubation, que j'appellerai développement de post-diapause.

Je présenterai successivement les variations de sensibilité à chacun de ces stades, ce pour des œufs monovoltins et pour la génération à diapause des œufs bivoltins.

A. — *Début du développement embryonnaire*

J'ai souligné précédemment la difficulté d'obtenir en quantité suffisante des œufs d'âge déterminé. Cette difficulté est très grande chez les monovoltins, dont les pontes sont très échelonnées dans le temps.

Par ailleurs, les observations peuvent être effectuées au plus tôt cinq à six mois après l'irradiation. Il est possible que cette longue conservation entraîne des modifications des dommages radio-induits, dans le sens d'une réparation ou dans le sens

d'une aggravation. En outre, il est à craindre que l'irradiation ne retentisse sur l'intensité de diapause, auquel cas les observations porteraient sur la résultante d'interactions très complexes.

Il est donc difficile d'étudier cette période.

1. *Œufs monovoltins.*

La synchronisation des embryons n'est pas bonne et les résultats sont, de ce fait, peu précis. Cependant les diverses expériences ainsi réalisées montrent que la sensibilité très élevée le premier jour diminue rapidement pour devenir très faible dès le troisième jour.

2. *Œufs bivoltins.*

TABLEAU 6

Variation de la mortalité corrigée avec la dose et le stade de développement pour des œufs bivoltins à diapause

âge (heures)	dose		
	1 000	2 000	3 000
12	41,8	67,5	97,5
36	3,3	42,7	60,2
60	— 1,1	23,8	48,9
84	0,8	— 1,7	14,6
108	3,8	12,2	15,8
132	— 4,0	7,7	12,9
156	0,9	7,4	9,7

Il est possible dans ce cas d'opérer de façon plus précise, les résultats consignés dans le tableau 6 confirment les observations réalisées sur les monovoltins. La mortalité, très élevée à douze heures diminue rapidement et après 84 heures elle est très faible, même à 3 000 R.

B. — *Diapause*

La plupart des expériences ont été effectuées pendant l'hivernation, l'estivation paraissant moins intéressante.

Deux méthodes peuvent être envisagées. La première consiste à irradier les œufs après des durées croissantes d'hivernation et à les remettre aussitôt au réfrigérateur. Tous ces œufs sont mis en incubation le même jour, une fois la diapause éliminée. Il est alors facile de voir l'influence de la durée d'hivernation préalable sur la radiosensibilité. Il ne semble pas que le fait de placer les œufs à haute température (25°C) durant l'irradiation ait une influence marquée. L'inconvénient de cette méthode réside dans le fait que l'on ne peut observer les résultats qu'au bout d'un temps long.

La deuxième méthode diffère de la première en ce que les œufs sont mis en incubation aussitôt après l'irradiation, au lieu de retourner au froid. Cette méthode est applicable seulement après élimination de la partie dure.

La comparaison entre ces deux modes expérimentaux permet de tester l'effet du séjour à basse température après irradiation.

1. *Œufs monovoltins.*

a) *Élevage de printemps.*

Les deux méthodes appliquées à des œufs de même origine ont donné les résultats consignés respectivement dans les tableaux 7 et 8. La concordance entre les deux séries est bonne : l'effet du séjour au froid est très faible ou nul.

TABLEAU 7

Influence de la diapause sur la sensibilité aux rayons X (élevage de printemps)

Durée d'hivernation (j.)	T	500	1 000	2 000	3 000	
61	18,9	—	20,1	21,1	21,6	Durée de développement (j.)
96	15,3	15,9	16,8	17,7	—	
117	14,2	—	16,2	16,9	—	
123	14,1	14,9	15,8	16,6	17,2	
61	3,4	—	3,6	12,0	13,9	Mortalité p. 100
96	4,5	5,9	4,9	15,6	—	
117	1,6	—	7,7	21,3	—	
123	4,1	2,8	8,2	27,6	42,9	

TABLEAU 8

Variations de radiosensibilité pendant la diapause pour des œufs irradiés sept à huit heures après la sortie du réfrigérateur

Durée d'hivernation avant irradiation (j.)	Témoin	500	1 000	2 000	
(*)	15,5	15,9	16,3	16,6	Durée de développement (j.)
45	15,5	15,9	16,3	17,1	
59	15,9	16,1	17,0	18,0	
88	15,8	16,2	16,4	17,7	
(*)	4,6	3,4	4,9	5,3	Mortalité p. 100
45	2,1	3,4	7,3	7,7	
59	4,6	3,0	8,0	15,0	
88	1,9	5,3	6,8	16,3	

(*) Ces œufs ont été irradiés durant l'estivation, deux jours avant la mise au frigidaire. Tous les lots ont eu six mois d'estivation et 91 jours d'hivernation.

La mortalité n'est pas affectée par une dose de 2 000 R lorsque l'hivernation est inférieure à 50 jours. Elle croît ensuite progressivement et après 100 jours diffère significativement de celle des témoins. L'analyse statistique ne fait apparaître aucune action sur la mortalité pour une dose de 1 000 R. Dans ce cas cependant, la durée de développement est augmentée de façon significative, quelle que soit la durée d'hivernation. A 500 R la durée de développement est affectée pour une hivernation supérieure à 90 jours.

La sensibilité pendant l'estivation ne diffère pas de celle observée au début de l'hivernation, ce qui confirme que le froid n'a pas ou peu d'action. La diapause constitue une phase résistante, la sensibilité augmentant au fur et à mesure que la diapause s'élimine. Cette élimination progressive indiquée par la diminution correspondante de la durée de développement des lots témoins, paraît concerner seulement la phase résiduelle.

b) *Élevage d'automne.*

Les mêmes expériences ont été réalisées sur des œufs provenant d'élevages d'automne dont la diapause est plus intense. Les résultats confirment les précédents, à cela près que la résistance est plus élevée, la mortalité à 3 000 R n'augmentant de façon significative que pour des durées d'hivernation supérieure à 100 jours. La durée de développement est plus sensible que la mortalité, une dose de 1 500 R l'augmentant toujours de façon significative (cf. tabl. 9).

TABLEAU 9

Sensibilité aux irradiations fractionnées durant l'hivernation

Durée d'hivernation avant irradiation	Durée de développement			Mortalité p. 100		
	Dose			Dose		
	1 500	1 500 × 2	3 000	1 500	1 500 × 2	3 000
35	16,2	16,9	17,2	2,9	5,1	10,6
43	16,1		17,2	1,6		6,3
56	16,1	16,9	17,2	2,6	9,5	10,0
64	16,2		17,4	2,3		9,1
97	16,1	17,1	17,4	2,6	9,8	12,2
105	16,2		17,8	2,8		13,7
112	16,6	17,3	18,2	3,5	10,5	14,2

La sensibilité paraît rester constante durant toute la phase dure de la diapause.

Pour une même durée d'hivernation préalable, la sensibilité des œufs remis à basse température après irradiation paraît légèrement plus élevée que celle des œufs placés en incubation aussitôt après.

Le séjour à basse température ne semble donc pas permettre la restauration ; cependant afin de le vérifier, j'ai procédé à l'expérience suivante (cf. tabl. 9).

Des œufs du même lot que le précédent reçoivent deux fois 1 500 R à huit ou quinze jours d'intervalle ; des œufs irradiés aux mêmes dates à 1 500 et 3 000 R respectivement servent de témoins. Tous sont mis en incubation en même temps après 146 jours d'hivernation.

Bien que les doses utilisées aient un effet réduit en raison de la forte intensité de diapause, l'analyse statistique met en évidence des différences significatives de la mortalité entre les lots ayant reçu 1 500 R et 2 × 1 500 R, alors qu'il n'y en a aucune entre les lots irradiés à 3 000 R et à 2 × 1 500 R.

Pour la durée de développement il n'en va pas ainsi, les différences entre les trois doses étant significatives.

Cette expérience qui ne permet pas de rejeter totalement l'hypothèse d'une restauration pendant l'hivernation montre toutefois que cette dernière est très faible si elle existe.

2. *Œufs bivoltins.*

La mortalité durant l'hivernation est très forte (tabl. 10), la diapause ne semblant apporter aucune protection. De plus, la sensibilité est beaucoup plus élevée à 3,5°C qu'à 22°C, alors que la température n'influe pas chez les monovoltins.

TABLEAU 10

Influence de la diapause sur la sensibilité aux rayons X (3 000 R) *des œufs bivoltins*

Durée d'hivernation (j.)	—4 (*)	27	37	44	50	58
Mortalité corrigée p. 100	34,0	94,5	94,3	96,4	97,4	98,3

(*) Cette série a été irradiée durant l'hivernation et placée au froid 4 jours plus tard. Tous ces œufs ont subi 115 jours d'estivation et 68 jours d'hivernation.

Même à 2 000 R la mortalité pendant l'hivernation est forte. Des résultats analogues ont été obtenus avec des polyhybrides japonais dont la diapause est faible.

Les bivoltins restent très sensibles aux conditions ambiantes pendant la diapause (LOMBARDI, 1965). Le froid doit avoir un rôle important chez les bivoltins. L'influence de la température, qui ne s'observe pas chez les monovoltins, semble bien confirmer ce fait.

Je propose l'hypothèse suivante :

— dans toutes les lignées la sensibilité pendant l'hivernation est la résultante de l'effet antagoniste de la diapause et du froid. Si la diapause est intense, son rôle protecteur est élevé et le froid a peu d'action. Si la diapause est faible, son rôle protecteur est peu important et, les œufs étant plus sensibles à la température, le froid aggrave fortement les effets de l'irradiation.

C. — *Développement de post-diapause*

Lors de la mise en incubation, les embryons se trouvent au stade « bandelette germinative », c'est-à-dire à un stade qui correspond à la fin de la phase 1 chez les embryons sans diapause. On devrait donc retrouver les trois autres phases au cours du développement de post-diapause.

1. *Œufs monovoltins.*

Le tableau II donne les résultats d'une série expérimentale. La mortalité et la durée de développement augmentent pendant les premières vingt-quatre heures, avant d'atteindre un maximum. La sensibilité décroît ensuite et devient très faible après une semaine. Les deux critères varient de façon voisine, cependant la durée de développement décroît généralement plus vite que la mortalité.

TABLEAU II

Variations de la radiosensibilité au cours de l'embryogenèse après hivernation
(œufs monovoltins — 196 jours d'hivernation)

Durée d'incubation avant irradiation	Mortalité p. 100		Durée de développement (j.)	
	1 000 R	2 000 R	1 000 R	2 000 R
1 h	11,7	43,8	15,4	16,6
10 h	15,3	48,7	15,7	17,1
24 h	11,0	54,0	15,3	16,1
2 j.	10,3	31,7	14,9	15,7
4 j.	8,4	18,2	14,6	15,1
7 j.	5,9	7,6	14,4	14,6
Témoin mortalité 8,9 Durée 14,6				

On retrouve pratiquement les quatre phases décrites pour les embryons sans diapause. Elles sont moins tranchées, parce que le développement des œufs est moins synchrone et que les doses utilisées sont trop faibles. Ce schéma se retrouve dans toutes les expériences réalisées.

2. *Œufs bivoltins.*

Avec les œufs de race Daizo on obtient un schéma de variations très particulier (cf. fig. 6).

La sensibilité, élevée à la sortie du frigidaire, varie peu pendant quelques heures, puis décroît brusquement et présente un maximum extrêmement marqué au bout de vingt-quatre heures. Elle croît ensuite aussi rapidement et passe par les quatre phases précédemment décrites.

Ce caractère spécial ne paraît pas lié à une particularité du déroulement de la morphogenèse. Je pense qu'il dépend plutôt de variations de l'activité métabolique : la brusque variation de température entraîne de fortes réactions qui favorisent l'action des rayonnements. Progressivement l'œuf retrouve un état d'équilibre qui entraîne une diminution de la sensibilité. L'embryogenèse peut ensuite reprendre normalement et dès lors la sensibilité varie de la façon habituelle.

Ces phénomènes interviennent chez les Daizo très sensibles à la température, on ne les trouve pas chez les monovoltins qui manifestent une beaucoup plus grande indifférence à l'égard des conditions ambiantes.

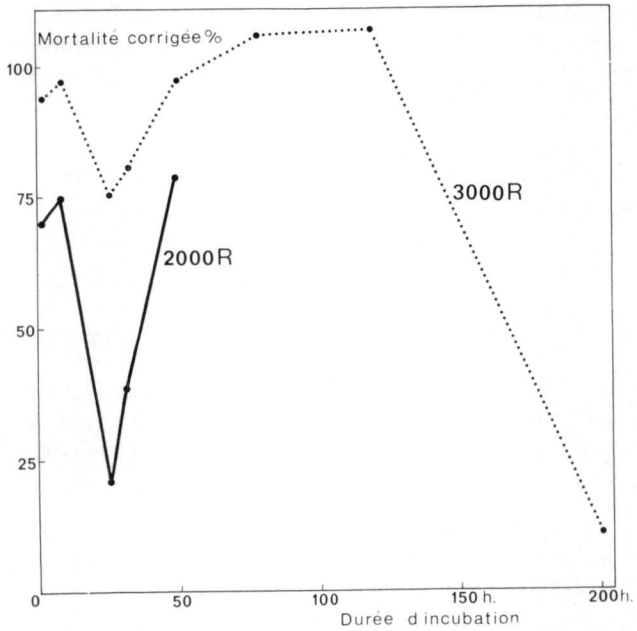


FIG. 6. — *Variation de la mortalité corrigée à 2 000 R en fonction de la durée d'incubation au cours du développement de post-diapause d'œufs bivoltins.*

Pour étudier l'interaction entre froid et rayonnements, j'ai pris des œufs de la génération sans diapause âgés de douze heures et les ai divisés en trois lots :

le lot 1 est irradié et laissé à 22°C
le lot 2 est irradié et placé à 3,5°C puis à 22°C
le lot 3 est placé à 3,5°C puis irradié et mis à 22°C

La durée de séjour à 3,5°C est de trois jours dans les deux cas ; la morphogenèse étant bloquée à cette température, les trois lots se trouvent au même stade au moment de l'irradiation. Les différences proviennent donc uniquement du traitement par le froid (tabl. 12).

TABLEAU 12

Influence du froid sur la radiosensibilité (mortalité corrigée p. 100)

Lot	Dose		
	1 000	2 000	3 000
1	7,6	32,4	89,1
2	4,3	56,6	98,4
3	2,8	71,7	98,4

A 1 000 R, la mortalité est négligeable et le froid n'entraîne aucune différence. A 3 000 R, le froid, qu'il intervienne avant ou après l'irradiation, augmente significativement la mortalité, celle-ci est toutefois trop importante pour que les différences

soient bien marquées. Par contre, à 2 000 R les trois lots diffèrent très significativement. Le froid augmente l'action des rayons X, cet effet est plus marqué si l'irradiation intervient après le séjour au froid.

III. — Conclusion

L'étude des embryons à développement continu a permis de définir quatre phases de sensibilité. La diapause semble intervenir uniquement au niveau de la phase 1.

A. — *Début du développement des œufs avec ou sans diapause*

Afin d'éliminer une influence possible de la saison, j'ai élevé, simultanément, deux lots de larves Daizo ; un des lots avait été traité pour fournir des œufs sans diapause, l'autre pour fournir des œufs à diapause. Les variations de la mortalité en fonction de l'âge pour les deux lots figurent dans la figure 7.

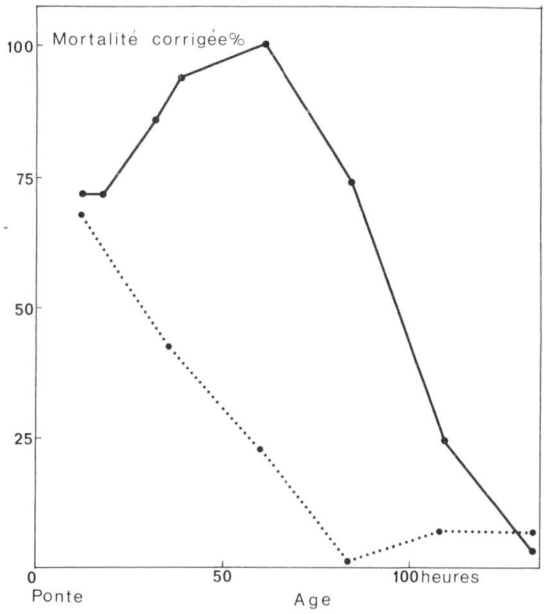


Fig. 7. — *Variation de la mortalité corrigée à 2 000 R en fonction de l'âge pour des embryons bivoltins présentant ou non une diapause.*

A douze heures, la mortalité est sensiblement la même dans les deux lots, par contre, alors que celle des embryons sans diapause croît rapidement à partir de 18 heures, celle des embryons à diapause décroît tout aussi rapidement.

Il est raisonnable de penser que, jusqu'aux environs de la vingtième heure, les deux types d'embryons se comportent sensiblement de la même manière. En effet,

il ne paraît pas y avoir de différences entre les œufs naturellement sans diapause, et ceux dont la diapause a été évitée par un traitement à l'acide chlorhydrique. Or ce dernier donne les meilleurs résultats lorsqu'il est appliqué à la vingtième heure. Il est donc vraisemblable que l'influence de la diapause se fasse peu sentir auparavant.

Il est remarquable que par la suite, alors que la différenciation se poursuit, la sensibilité des embryons à diapause diminue rapidement à un moment où la sensibilité devient maximale chez les embryons à développement continu. Les processus de différenciation ne sont sans doute pas tout à fait les mêmes dans les deux cas, je pense cependant que ce sont les modifications liées à la diapause qui entraînent cette diminution de sensibilité. Dès le début, la diapause s'avère être un état radiorésistant.

B. — *Diapause*

Je me suis intéressé essentiellement à l'hivernation où l'on distingue une phase dure et une phase résiduelle, la sensibilité ne paraissant pas varier pendant l'estivation.

Les résultats obtenus montrent une différence nette entre la race monovoltine et la race bivoltine étudiées.

1. *Race monovoltine.*

Le passage à la température d'hivernation n'entraîne pas de modification notable de la sensibilité, qui reste à un niveau très bas pendant toute la phase dure. Au cours de la phase résiduelle la sensibilité augmente progressivement.

La comparaison entre les pontes de printemps et celles d'automne montre que la sensibilité est d'autant plus faible que la diapause est plus intense.

Le froid ne joue aucun rôle protecteur ; la restauration est sinon absente, tout au moins très réduite.

2. *Race bivoltine.*

La sensibilité augmente lorsque les œufs sont placés à basse température, elle reste très élevée durant toute l'hivernation.

Le froid joue un rôle défavorable chez les bivoltins qui, en raison de leur faible diapause, restent très sensibles aux conditions d'ambiance.

La différence de sensibilité entre 200/300 et Daizo conduit à la conclusion suivante :

la diapause est un état radiorésistant d'autant plus marqué qu'elle est plus intense. Le froid aggrave l'effet des rayonnements, son influence étant plus nette sur les œufs à diapause faible. La sensibilité observée durant la diapause est la résultante de ces deux facteurs antagonistes.

C. — *Développement de post-diapause*

On retrouve au cours de cette période les quatre phases de sensibilité précédemment décrites.

La phase 1 qui avait pratiquement disparu au début du développement en raison de la diapause se retrouve ici, avec un sens un peu différent sans doute. Elle traduit au moins pour partie l'adaptation progressive de l'embryon à la température d'incubation, c'est-à-dire les modifications physiologiques conduisant à la reprise de la

morphogenèse (initiation de développement au sens de Le Berre, 1957).

Par ailleurs, il n'y a pas de différence notable pendant la poursuite du développement entre les deux types d'embryons.

Chez les bivoltins, la phase d'initiation de développement est plus longue et marquée par de fortes variations de sensibilité, en raison d'une plus grande susceptibilité à la température.

La figure 8 schématise les variations de la sensibilité avec le développement pour les deux types d'embryons. La diapause entraîne une translation dans le temps des différentes phases.

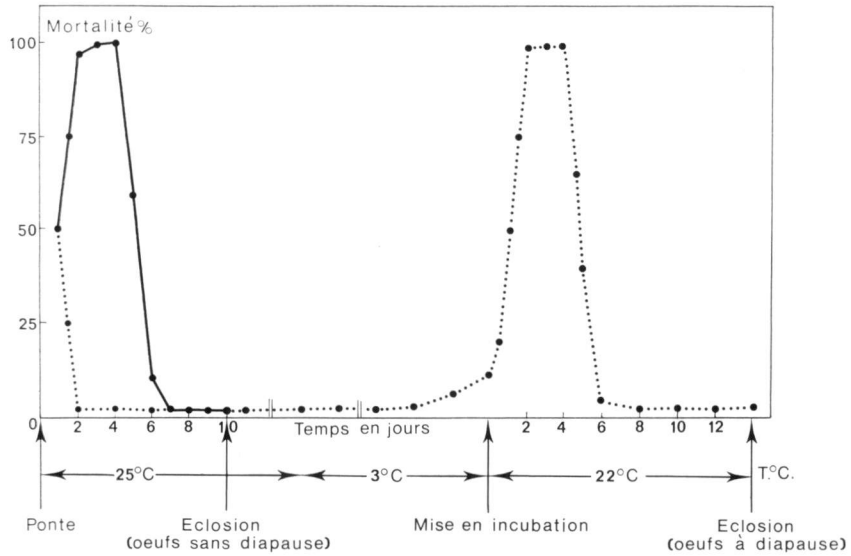


Fig. 8. — *Représentation schématique de l'influence de la diapause sur les variations de la radiosensibilité avec le développement embryonnaire.*

Les deux critères varient de façon parallèle. La sensibilité observée peut être décrite uniquement à l'aide de la sensibilité propre, la restauration paraissant très réduite.

Il est possible de modifier les conditions en agissant notamment sur la durée d'hivernation. Ce sera l'objet du prochain chapitre.

III. — MODIFICATION DE LA SENSIBILITÉ

L'analyse des variations de la mortalité au cours de l'hivernation m'a conduit à admettre l'hypothèse d'un antagonisme entre diapause et froid. Pendant l'élimination de la phase résiduelle, le rôle protecteur de la diapause diminue et la sensibilité augmente. Il est intéressant de voir ce qui se passe lorsqu'on prolonge le séjour au réfrigérateur.

1. — *Irradiation des œufs après des durées croissantes d'hivernation*

L'irradiation a lieu dès la sortie du réfrigérateur.

a) *Influence de la durée d'hivernation.*

Les deux séries expérimentales réalisées donnent des résultats tout à fait comparables. Le tableau 13 donne pour l'une d'elles les variations de la mortalité corrigée et de l'augmentation relative de la durée de développement.

TABLEAU 13

Variations de la mortalité corrigée et de l'allongement relatif de la durée de développement avec la conservation au froid

Durée d'hivernation (j.)	Allongement relatif p. 100			Mortalité corrigée p. 100		
	500	1 000	2 000	500	1 000	2 000
198	2,0	5,5	13,7	0	3,1	38,4
211	2,0	6,1	15,0	0,2	3,8	60,4
231	—	—	—	0	12,1	74,3
273	3,4	7,5	13,0	1,4	22,1	85,6
315	1,3	3,3	—	4,1	37,3	90,1

Une constatation importante s'impose dès l'abord : pour une dose donnée la mortalité augmente de façon très spectaculaire, alors que la durée de développement reste constante, voire même diminue après une très longue hivernation.

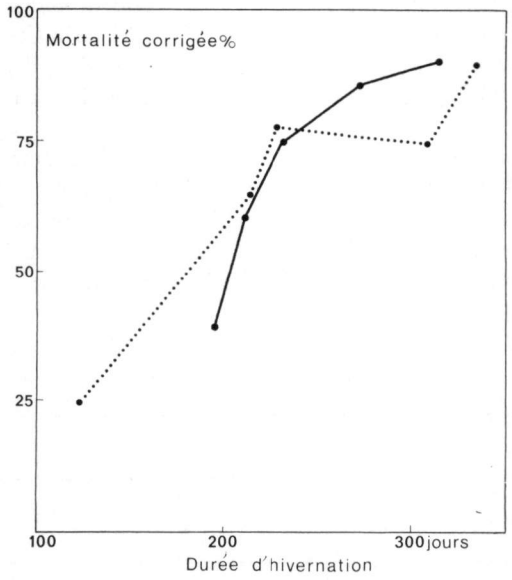


FIG. 9. — *Variation de la mortalité corrigée à 2 000 R en fonction de la durée d'hivernation*

irradiation dès la sortie du frigidaire

irradiation après 7 à 8 heures d' incubation.

D'autre part, si la mortalité des témoins n'augmente de façon rapide qu'après 300 jours d'hivernation (tabl. 3), la mortalité à 2 000 R devient trés élevée dès que la durée d'hivernation atteint 200 jours.

L'irradiation révèle donc des modifications physiologiques encore peu perceptibles et pourrait de ce fait être utilisée dans ce domaine comme moyen d'exploration. Elle met particulièrement en évidence le rôle défavorable de la conservation prolongée à basse température.

Quelques expériences, plus fragmentaires, ont été réalisées en irradiant entre 16 heures et 17 heures des œufs mis en incubation le matin même : les résultats concordent avec les précédents (cf. fig. 9), mais sont plus irréguliers.

Pour une dose donnée, la durée de développement est pratiquement constante alors que celle des témoins augmente. L'irradiation qui, pour ces durées d'hivernation, provoque une forte mortalité entraîne une sélection des individus les plus résistants ; c'est pourquoi la durée de développement n'augmente pas, la sélection devenant de plus en plus sévère. Chez les témoins au contraire cette sélection est faible et les embryons peu vigoureux peuvent éclore, leur développement étant plus lent conduit à une augmentation de la durée moyenne.

Le fait que chez les embryons irradiés, la durée de développement n'augmente pas suggère que la sensibilité propre ne varie pas lorsque les œufs sont maintenus au froid. L'augmentation de la mortalité proviendrait donc d'une diminution progressive des capacités de restauration.

b) *Action du froid après irradiation.*

Si la sensibilité propre ne varie pas durant le séjour prolongé au froid, la mortalité ne doit pas dépendre du moment où intervient l'irradiation, mais simplement de la durée totale d'hivernation. Pour le vérifier j'ai procédé à l'expérience suivante :

Des œufs ayant subi 231 jours d'hivernation sont irradiés à 1 000 et 2 000 R puis divisés en trois lots :

le premier lot est mis en incubation immédiatement
le deuxième lot est placé au réfrigérateur pour 42 jours
le troisième lot est placé au réfrigérateur pour 84 jours.

Parallèlement des œufs sont irradiés aux mêmes doses après 273 et 315 jours d'hivernation respectivement et mis aussitôt en incubation.

TABLEAU 14

Influence de la durée totale d'hivernation sur la mortalité des embryons irradiés

Hivernation (jours)			Mortalité corrigée p. 100	
Avant irradiation	Après irradiation	Totale	1 000 R	1 000 R
231	0	231	13,4	73,9
231	42	273	24,9	86,1
231	84	315	46,8	93,1
273	0	273	22,1	85,2
315	0	315	37,3	90,1

Le tableau 14 montre que la mortalité augmente avec la durée du séjour à basse température, indépendamment du moment où a lieu l'irradiation. La sensibilité des œufs placés en incubation dès l'irradiation paraît cependant plus faible.

Une expérience similaire effectuée sur des œufs ayant subi 350 jours d'hivernation donne les mêmes résultats.

Pour interpréter ces résultats il faut admettre d'une part que la restauration est bloquée par le froid, d'autre part que le séjour prolongé au froid entraîne un affaiblissement graduel des capacités que possède l'embryon de réparer les lésions lorsqu'il est mis en incubation.

c) *Conclusion.*

Lorsque les œufs de *Bombyx mori*, tant monovoltins que bivoltins, sont conservés à basse température après élimination de la diapause, la mortalité pour une dose déterminée augmente rapidement, que l'irradiation intervienne dès la sortie du réfrigérateur ou après quelques heures d'incubation (fig. 9). Dans les mêmes conditions, la durée de développement a tendance à diminuer légèrement. Il y a donc entre ces deux critères une nette divergence.

La mortalité est la résultante de l'effet propre des radiations et de l'effet antagoniste de la restauration, la durée de développement est liée seulement à l'effet des radiations. La conservation au froid n'agit pas sur l'effet propre des radiations, mais diminue les capacités de restauration ce qui déplace l'équilibre effet létal/effet antilétal dans le sens d'une plus grande mortalité. Cette hypothèse est confirmée par le fait que la mortalité ne dépend que de la durée totale de séjour au froid, non du moment où a lieu l'irradiation.

Il y a donc une différence importante entre les deux phases de l'hivernation correspondant respectivement à la diapause et à la conservation prolongée au froid. Au cours de la première, durée de développement et mortalité varient de même manière, la sensibilité dépendant uniquement du moment où intervient l'irradiation et non de la durée totale d'hivernation. Durant la seconde période, seule la mortalité varie, cette variation provenant seulement de la durée totale d'hivernation.

Avec l'élimination de la diapause la sensibilité propre de l'embryon augmente progressivement. Elle reste ensuite sensiblement constante, les facultés de restauration diminuant avec la conservation prolongée à basse température.

La figure 9 montre que la mortalité des œufs irradiés dès la sortie du réfrigérateur croît régulièrement alors que celle des embryons irradiés quelques heures plus tard présente des irrégularités. Cette différence devient beaucoup plus marquée si l'irradiation intervient après vingt-quatre heures d'incubation. Cela m'a conduit à étudier les variations de la sensibilité en fonction de la durée d'incubation pour des œufs ayant subi une conservation prolongée au froid.

2. — *Modification des courbes mortalité-durée d'incubation sous l'influence de l'hivernation*

a) *Conservation prolongée au froid.*

La figure 10 représente les variations de la mortalité corrigée à 2 000 R en fonction de la durée d'incubation pour des œufs ayant subi respectivement 196, 273 et 315 jours d'hivernation.

Les trois courbes sont très différentes : la phase 1 présente dans la courbe *a*, a disparu des courbes *b* et *c* et la phase 2 paraît avoir diminué. Par contre, la mortalité maximale a augmenté et la phase 3 devient d'autant moins brève que la durée d'hivernation préalable a été plus importante. La durée de développement varie sensiblement de même façon, à cela près que le maximum n'augmente pas.

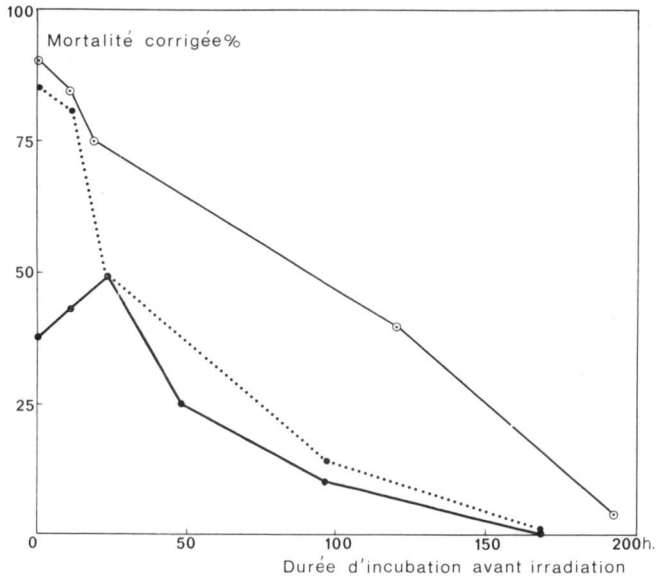


FIG. 10. — *Variation de la mortalité corrigée à 2 000 R en fonction de la durée d'incubation avant irradiation, après des hivernations croissantes.*

J'ai interprété la phase 1 du développement de post-diapause en la reliant aux modifications physiologiques de l'initiation de développement et à la reprise de la différenciation. Le fait que cette phase disparaisse après une longue conservation au froid, conduit à supposer que les phénomènes correspondants se sont alors déroulés à basse température. Une fois la diapause éliminée, la morphogenèse est inhibée par le froid mais pas complètement bloquée et progresse très lentement. Lorsque l'hivernation est suffisamment longue, l'embryon peut atteindre un stade avancé avant la mise en incubation.

Cette interprétation paraît en contradiction avec le fait que la durée de développement augmente après de longues hivernations. La comparaison des trois courbes *a*, *b* et *c* montre que la sensibilité diminue d'autant moins vite que le séjour au froid a été plus important. Ce phénomène est particulièrement net si l'on fait se correspondre les trois maxima, au lieu de prendre comme origine commune la mise en incubation : le déroulement de la morphogenèse est d'autant plus lent que la durée d'hivernation préalable est plus élevée.

La durée de développement apparente des embryons maintenus au réfrigérateur après élimination de la diapause dépend de deux facteurs opposés : une partie de l'embryogenèse s'effectuant à basse température, la durée de développement à la température d'incubation tend à diminuer, mais le séjour prolongé au froid entraîne un ralentissement des processus de morphogenèse à 22°C. Pendant longtemps ces deux facteurs s'équilibrent, puis le deuxième l'emporte lorsque le séjour au réfrigérateur devient trop important, d'où résulte une augmentation de la durée apparente de développement.

Un phénomène assez voisin se produit tant que la diapause n'est pas éliminée : la durée d'incubation recouvre alors l'élimination de la diapause résiduelle et l'embryogenèse proprement dite. On doit donc observer dans ce cas un allongement de la durée de la phase 1.

b) Incubation avant élimination complète de la diapause.

Des œufs d'automne à diapause intense (élimination totale au bout de 150 jours d'hivernation) ont été mis en incubation respectivement après 96 et 124 jours à 3°C. Le figure 11 représente les variations de la mortalité à 2 000 et 3 000 R.

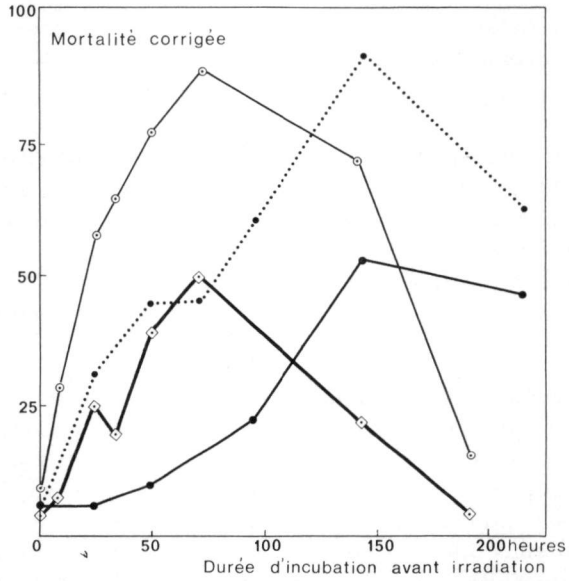


FIG. 11. — *Variation de la mortalité corrigée à 2 000 R et 3 000 R en fonction de la durée d'incubation avant irradiation, pour des embryons présentant un résidu de diapause.*

Dans les deux cas la mortalité à la sortie du réfrigérateur est faible ; les maxima sont également du même ordre de grandeur. Par contre, la phase 1 est d'autant plus

longue que la durée d'hivernation a été plus courte. Il faut en outre signaler que, si à 3 000 R la sensibilité au début de l'incubation est la même dans les deux cas, à 4 000 R elle est plus élevée dans la deuxième série.

La durée de développement varie comme la mortalité.

La phase 1 correspond ici à l'élimination de la diapause résiduelle qui précède la reprise de la morphogenèse. L'augmentation de sensibilité est continue du fait que cette élimination n'intervient pas au même instant pour tous les embryons. Cette augmentation est d'autant plus lente que l'hivernation a été plus courte c'est-à-dire que la phase résiduelle est plus importante. Ceci confirme indirectement le rôle protecteur de la diapause ; tant qu'elle n'est pas totalement éliminée la sensibilité reste faible.

Pour les deux séries expérimentales la différence entre les durées moyennes de développement des témoins est de l'ordre de quatre jours. La différence entre les positions des deux maxima de sensibilité est du même ordre de grandeur. On retrouve les mêmes différences si on compare ces résultats à ceux obtenus pour une incubation normale. Ces observations confirment l'hypothèse émise précédemment, à savoir que la durée apparente de développement comprend deux phases distinctes : au cours de la première la diapause résiduelle s'élimine, la seconde correspond à la morphogenèse proprement dite.

La diminution de la durée de développement avec l'hivernation provient uniquement de l'élimination progressive de la diapause résiduelle.

3. — *Conclusion*

Les expériences précédentes donnent des indications intéressantes sur le déroulement de la morphogenèse de post-diapause. Il en ressort que l'état de l'embryon au moment de la mise en incubation varie avec la durée d'hivernation. On peut dès lors se demander dans quelle mesure l'interprétation des expériences concernant le rôle de la diapause et celui du séjour prolongé au froid est correcte.

Je vais examiner les résultats obtenus à la lumière de ces données nouvelles.

a) *Diapause.*

Lorsque les œufs sont placés en incubation après des durées croissantes d'hivernation, ils se trouvent toujours au même stade de développement embryonnaire. Le seul changement réside dans le degré d'élimination de la diapause. La sensibilité à la sortie du réfrigérateur, dépend donc uniquement de ce phénomène.

La lente augmentation de la sensibilité pendant l'incubation (manifeste surtout à 2 000 R) après 96 jours d'hivernation confirme le rôle protecteur de la diapause et montre que cette protection est aussi forte à haute qu'à basse température.

b) *Conservation prolongée au froid.*

Au cours de cette période, la morphogenèse reprend et bien qu'elle se déroule très lentement, les embryons mis en incubation après des durées croissantes d'hivernation se trouvent à des stades de plus en plus avancés donc de plus en plus sensibles. De ce fait, il n'est pas certain que l'augmentation de la mortalité avec la durée d'hivernation provienne d'un effet défavorable de celle-ci.

Cependant la figure 10 montre que la mortalité croît. Par ailleurs, la durée de la phase 1 étant assez limitée, il est vraisemblable qu'au-delà d'une certaine prolongation du séjour au réfrigérateur les embryons se trouvent dans la phase 2, c'est-

à-dire dans un état où la sensibilité ne varie plus guère avec le stade de développement. Le séjour prolongé à basse température entraîne donc bien une augmentation de la mortalité.

Par contre, durant la diapause le maximum ne change pas, et même après 196 jours de froid il reste du même ordre. Pratiquement, il faut attendre 200 jours pour que la sensibilité maximale augmente réellement. Auparavant, l'accroissement observé lors de la mise en incubation dépend seulement, du plus grand degré d'élimination de la diapause d'abord, du développement à basse température ensuite.

Lorsqu'on irradie des embryons dès la mise en incubation, on observe donc trois phases, qui se recouvrent plus ou moins, dans l'accroissement de la sensibilité avec la durée d'hivernation.

— Tant que la diapause n'a pas totalement disparu, mortalité et durée de développement augmentent parallèlement en raison de l'élimination progressive de la diapause.

— Au cours de la conservation prolongée au froid, la mortalité croît tout d'abord parce que les embryons se développant à basse température atteignent à la sortie du réfrigérateur un stade de plus en plus sensible.

— Pour de très longues durées d'hivernation, la sensibilité propre ne paraît guère modifiée, par contre, les capacités de restauration diminuant, la mortalité devient de plus en plus forte.

La stabilité de la durée de développement, au cours de la dernière période, provient de ce que la faible augmentation de sensibilité propre est compensée par la sélection d'individus plus résistants sous l'influence des radiations.

IV. — CONCLUSIONS

Au cours des chapitres précédents j'ai présenté des résultats d'ordre à la fois physiologique et radiobiologique, je m'efforcerai ici de séparer ces deux types de résultats.

1. — *Physiologie de l'embryon de* Bombyx mori

L'étude des variations du pourcentage de mortalité et de la durée de développement en fonction de la durée d'hivernation conduit à définir une intensité de diapause et montre que cette intensité varie avec la race et la période d'obtention des pontes. Les mêmes critères permettent de mettre en évidence deux phases dans la diapause. Il y a tout d'abord une phase dure, présentant un optimum à basse température, dont la fin pourrait correspondre au retour à l'état normal de la structure des membranes mitochondriales. Cette phase correspond à la diapause au sens strict. Lui succède une phase résiduelle présentant un optimum à haute température au cours de laquelle interviennent les réactions physiologiques nécessaires à la reprise de la morphogenèse, réactions rendues possibles par l'élimination de la partie dure. Je pense qu'on peut assimiler cette phase à celle d'initiation de développement (Le Berre, 1957).

Le maintien au réfrigérateur des œufs après élimination de la diapause devient rapidement défavorable ce qui se traduit par une augmentation de la mortalité puis de la durée de développement des embryons.

L'étude de la forme des courbes d'éclosion et celle des variations de la sensibilité aux rayonnements en fonction de la durée d'incubation et de la durée d'hivernation préalables montrent que la durée apparente de développement ne coïncide pas toujours avec la durée réelle de la morphogenèse.

Après des hivernations courtes la diapause résiduelle doit être éliminée à la température d'incubation avant que ne débute la morphogenèse proprement dite.

Lorsque l'hivernation se prolonge, la morphogenèse débute à basse température et les embryons atteigent des stades de plus en plus avancés au moment de la mise en incubation. Toutefois, en raison du « vieillissement » provoqué par le séjour prolongé au réfrigérateur, le déroulement de la morphogenèse à la température d'incubation se trouve ralenti. Les deux phénomènes se compensent tant que la durée d'hivernation n'est pas trop élevée, par la suite le ralentissement l'emporte et la durée de développement apparente croît.

Cette interprétation est en accord avec les résultats de TAKAMI (1966) et de COULON (1966). Le premier auteur a noté une croissance des embryons conservés à 5°C après élimination de la diapause, croissance qui débute par une simple élongation, les divisions cellulaires intervenant un peu plus tard.

COULON a fait l'étude morphologique embryonnaire d'œufs ayant subi des durées croissantes d'hivernation et obtenu les résultats suivants :

— tant que la diapause résiduelle n'est pas éliminée à basse température, la morphogenèse débute après une certaine durée d'incubation puis se poursuit à vitesse normale ;

— après conservation prolongée au froid, les œufs atteignent des stades de plus en plus avancés avant la mise en incubation, leur croissance étant de plus en plus ralentie.

2. — *Radiosensibilité de l'embryon de* Bombyx mori

a) *Développement des embryons sans diapause.*

Mes expériences mettent en évidence quatre phases distinctes dans les variations de radiosensibilité :

— Phase 1 : augmentation de la sensibilité depuis la quinzième jusqu'à la quarantième heure environ, à 25°C. Cette phase paraît correspondre au début de la différenciation et à la mise en place de la bandelette germinative.

— Phase 2 : plateau où la sensibilité est maximale. Ce plateau est plus ou moins net suivant la dose utilisée et paraît s'étendre de la quarantième à la centième heure à 25°C. Il correspond à la différenciation des principaux organes, en particulier du système nerveux.

— Phase 3 : diminution extrêmement rapide de la sensibilité, en un peu plus de vingt-quatre heures la DL 50 passe de 1 000 à 8 000 R. Cette phase débute avec l'achèvement de la balstocinèse.

— Phase 4 : phase très résistante (DL 50 > 8 000) au cours de laquelle croissent les organes déjà mis en place.

Les phases 3 et 4 paraissent admises par la plupart des auteurs qui relient la phase 3 (plus ou moins nette suivant les doses et le matériel utilisé) à l'achèvement de la blastocinèse. C'est notamment le cas de KATSUKI (cité par TAZIMA, 1959) pour *Bombyx mori* et de BLUZAT (1964) pour *Gryllus domesticus*.

La phase 2 est plus ou moins importante suivant les auteurs et ne se présente pas toujours comme un plateau, elle a cependant droit de cité encore que BLUZAT note une diminution de la sensibilité dès la ponte.

Par contre, la phase 1 n'est généralement pas signalée. Pour la plupart des auteurs, la sensibilité est maximale dès la ponte, comme le signale BLUZAT (1964). AKITA trouve de tels résultats avec *Bombyx mori* (communication personnelle). Cependant, EVANS (1936) a observé un maximum de sensibilité aux cinquième et sixième jours chez les embryons de *Melanoplus differentialis*. Il se peut que cette phase ait été masquée à la plupart des auteurs par le manque de synchronisation des embryons.

b) *Développement des embryons à diapause.*

Ce développement se subdivise en trois parties :

— début du développement embryonnaire
— diapause
— développement de post-diapause

1. *Début du développement embryonnaire.*

Le développement s'arrête au stade bandelette germinative, c'est-à-dire à un moment correspondant à la fin de la phase 1. Or, la sensibilité diminue fortement entre les vingtième et quarantième heures. Le déroulement de la morphogenèse étant sensiblement le même jusqu'à ce stade pour les deux types d'embryon, on doit conclure que les différences de sensibilité proviennent essentiellement de l'installation de la diapause.

Le fait que la vingtième heure soit le moment le plus favorable pour le traitement à l'acide chlorhydrique conduit en effet à penser que la diapause commence à s'installer dès cet instant.

2. *Diapause.*

A un moment où la sensibilité serait normalement maximale, celle des œufs à diapause a atteint un minimum qui ne variera guère pendant l'estivation. Pour l'hivernation il faut tenir compte de l'intensité de diapause.

a) *Diapause forte* (200/300). — Le passage de la température d'estivation à celle d'hivernation n'entraîne pas de variation de la sensibilité, qui reste au même niveau tant que la phase dure n'est pas éliminée. Au cours de l'élimination de la phase résiduelle, la sensibilité croît lentement.

b) *Diapause faible* (Daizo). — La sensibilité qui est faible pendant l'estivation, augmente brusquement lors du passage au réfrigérateur et reste toujours très élevée.

Dans les deux cas, les différentes expériences effectuées indiquent que la restauration est sinon totalement absente, tout au moins extrêmement ralentie, Il y a antagonisme entre l'effet protecteur de la diapause et l'effet sensibilisant du froid.

3. *Développement de post-diapause.*

Au moment de la mise en incubation, l'embryon est normalement au stade bandelette germinative, il devrait donc se trouver au début de la phase 2 et passer ensuite par les phases 3 et 4.

En fait, la sensibilité croît pendant un jour ou deux avant d'atteindre le maximum. Cela correspond à la reprise de la morphogenèse, qui démarre plus ou moins vite suivant le degré d'élimination de la diapause. Chez les 200/300 les phases 2 et 3 sont moins nettement tranchées qu'au cours du développement sans diapause. Ces différences proviennent vraisemblablement du fait que les embryons ne sont pas très synchrones et de ce que les doses utilisées sont trop faibles.

Les différentes expériences montrent que la diapause influe seulement sur la phase 1, comme je l'ai représenté schématiquement dans la figure 8 : il s'agit pratiquement d'une translation dans le temps.

Le fait que les embryons résistent à de fortes doses à un stade morphologique normalement très sensible montre que la diapause constitue une phase résistante.

Dans le cas de la race Daizo, on retrouve également les quatre phases, en outre, il apparaît une phase supplémentaire : au cours de la première journée d'incubation, la sensibilité varie fortement, présentant un minimum très marqué au bout de vingt-quatre heures.

c) *Conservation prolongée au froid.*

Lorsque les œufs sont maintenus au froid, la mortalité après une dose donnée augmente lentement tout d'abord, puis très rapidement ensuite alors que la durée de développement n'est pas modifiée.

Cette augmentation est en partie due au fait que les embryons se trouvent, au moment de la mise en incubation, à un stade d'autant plus avancé, donc plus sensible, que la durée d'hivernation préalable a été plus importante. Cependant, cette interprétation est insuffisante. L'augmentation de la mortalité provient également d'une diminution progressive des capacités de restauration sous l'influence du séjour prolongé au froid. Cette interprétation est confirmée par le fait que la mortalité dépend de la durée totale de séjour au froid, non du moment où a lieu l'irradiation.

Il est donc possible de dissocier, tout au moins pour partie, les variations de la sensibilité propre de celles des capacités de restauration. L'utilisation d'irradiations fractionnées ou continues permet d'analyser plus précisément ce dernier phénomène (TEULADE, 1965).

Un modèle cybernétique, rendant compte de ces différents résultats, sera proposé dans un article ultérieur.

Reçu pour publication en janvier 1970.

SUMMARY

STUDY ON THE SUSCEPTIBILITY TO RADIATION OF THE BOMBYX *BOMBYX MORI* L. EMBRYO AND ITS RELATIONS WITH THE DIAPAUSE

The total effect of an irradiation is the resultant of 2 opposed processes, a destroying process resulting from ionizing radiation, a restoration process associated with the own susceptibility of the organism.

The relative variations of these 2 phenomena have been studied on the *Bombyx mori* embryo, choosed for a diapause presence.

Criteria retained to measure the irradiation effects have been : embryonic development duration and mortality.

Experiences carry out have allowed to reveal the following conclusions :

1. Diapause includes a diapause stage (*sensu stricto*) with an optimum at low temperature and a residual stage (initiation of development) having an optimum for the incubation temperature.

2. Hibernation prolongation gives rise to embryos « ageing ».

3. Embryos with no diapause have successively four stages of susceptibility to radiation. In particular at the begining of the development the sensibility increase with age.

4. Cold increases the ionizing radiation effects.

5. Diapause is a stage of susceptibility for radiation.

6. Death with regard to the variation in dose rate increases with « ageing » in consequence of a decrease of the restauration capacities.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BLUZAT R., 1964. Influence des rayons X au cours de l'embryogenèse de *Gryllus domesticus*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **89**, 478-495.

CHINO H., 1960. Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing eggs of the silkworm *Bombyx mori*. I. On the polyol dehydrogenase. *J. Insect. Physiol.*, **5**, 1-15.

CHINO H., 1961. Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing eggs of the silkworm *Bombyx mori*. II. On the phosphatases. *J. Insect. Physiol.*, **6**, 231-40.

CHINO H., 1963. Respiratory enzyme system of the *Bombyx* silkworm egg in relation to the mechanism of formation of sugar alcohols. *Arch. Bioch. Biophys.*, **102**, 400-415.

COULON M., 1966. *Étude du spectre d'anomalies consécutives au vieillissement et à des irradiations X chez l'embryon de* Bombyx mori. Thèse 3e Cycle. Faculté des Sciences de Lyon.

CUBELLS A., 1955. Étude de l'action de la température sur les œufs de *Bombyx mori* pendant leur diapause. D. E. S. Montpellier. *Rev. Ver à soie.*, **7**, 1-237.

EVANS T. C., 1936. Qualitative and quantitative changes in radiosensitivity of grasshopper eggs during early development. *Physiol. Zool.*, **9**, 443-454.

ISHIKAWA H., 1966. The level of nicotinamide nucleotide coenzymes in relation to diapause and development of the *Bombyx* silkworm egg. *J. Fac. Sci. Tokyo. Univ.*, **4**, 11, 97-108.

LE BERRE J. R., 1957. Caractères biologiques des *Locusta* de la faune de France et étude d'un exemple de diapause embryonnaire. *Ann. I. N. R. A.* Hors-série.

LEGAY J. M., 1962. Caractère des processus métaboliques au cours de la diapause chez les insectes. *Ann. Nutr. Aliment.*, **16**, 65-89.

LOMBARDI P. L., 1955. Osservazioni varie sulla schiusura della uova di *Bombyx mori* L. provenienti da razze o incroci que presentano il carattere voltinismo (osservazioni di un ventennio). *Ann. Sper. agr.*, 1-32.

TAKAMI T., 1957. In vitro culture of embryos in the silkworm *Bombyx mori* L. I. Culture with silkworm extract in special reference to some characteristics of the diapausing egg. *Bull. Ser. Exp. Stat.* (Tokyo), **14**, 577-594.

TAKAMI T., 1966. Embryonic growth of the silkworm *Bombyx mori* at the early post diapause stage with special reference to the connection between the growth and nuclear division. *Bull. Sericult. Exp. Stat.* (Tokyo), **20**, 57-69.

TAZIMA Y., 1959. Radiation physiology of the silkworm with special reference to the effect of radiation on germs cells. In : *Recent advances in experimental morphology*, Takewaki *et al.*, **8**, 249-71. Eds, Yokenso, Tokyo.

TEULADE P., 1963. Variations du taux de mortalité et du temps de développement embryonnaire en fonction de la durée d'hivernation chez les œufs de *Bombyx mori*. *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 4507-4509.

TEULADE P., 1964. *Variations de la sensibilité aux rayons X des œufs de* Bombyx mori, *en fonction du développement embryonnaire et de la durée d'hivernation* Thèse 3e Cycle. Faculté des Sciences. Lyon.

TEULADE P., 1965. Irradiation continue à faible débit de dose des œufs de *Bombyx mori* et notion de débit de dose efficace. *J. Inst. Physiol.* **11**, 379-386.

TEULADE P., 1966. Récentes expériences de radiobiologie sur *Bombyx mori*. *Atomic Energy Review*, **4**, 23-57.

Ann. Zool. Écol. anim., 1970, **2** (2), 237-259.

PRINCIPAUX TYPES DE DÉGATS DE THYSANOPTÈRES SUR LES PLANTES CULTIVÉES

A. BOURNIER
avec la collaboration technique de Y. Pivot

Laboratoire de Recherches de la Chaire de Zoologie,
Centre de Recherches de Montpellier
École nationale supérieure agronomique
Institut national de la Recherche agronomique

RÉSUMÉ

Les Thysanoptères ou Thrips constituent un ordre assez peu étudié. Leurs déprédations sur les plantes cultivées ont souvent été attribuées à d'autres causes. Dans le but de permettre aux agronomes de les identifier, un rapide inventaire en a été dressé.

Les pièces buccales des thrips consistent en trois stylets : la mandibule gauche et deux maxilles qui piquent les cellules superficielles des végétaux. Au cours de la prise de nourriture l'insecte injecte sa salive qui diffuse dans les tissus et les détruit.

Les dégâts revêtent de multiples aspects : décoloration ou déformation de feuilles, cécidies, destruction des bourgeons terminaux, détérioration de pièces florales amenant la stérilisation des fleurs. Sur fruits, on enregistre des subérisations et des cicatrices épidermiques et, parfois, de graves déformations. Les bulbes attaqués sont desséchés ou décomposés par des microorganismes. La piqûre de meristèmes apicaux provoque dans certains cas des toxicoses.

Enfin les Thrips peuvent être vecteurs d'agents pathogènes : champignons, bactéries ou virus.

A. — INTRODUCTION

L'ordre des Thysanoptères ou Thrips compte en France 700 à 800 espèces dont certaines présentent un grand intérêt biologique et économique. Cependant ce groupe a été jusqu'ici peu étudié. Ceci tient à des causes multiples. Ces insectes sont de très petite taille (2 mm de longueur en moyenne) ; leur détermination est délicate et ne peut être faite avec certitude qu'après préparation et montage au Baume du Canada ; leur manipulation et leur élevage sont souvent difficiles car ils volent fort bien et s'échappent des cages les mieux conçues. Peu d'entomologistes consentent donc à s'occuper de ce groupe pourtant fort intéressant ; quant aux agronomes ils ont eu

souvent tendance à attribuer à toute autre cause des dégâts qui sont incontestablement dus aux Thrips. Citons, parmi d'autres, quelques exemples de ces confusions :

— la « mauvaise tête » du lin était imputée à tort à des facteurs atmosphériques ;

— les dégâts de *Drepanothrips reuteri* sur Vigne étaient pris pour de l'oïdium ;

— la déformation de certaines variétés de pêches et la subérisation de leur épiderme auraient été des brûlures de pesticides ;

— la moucheture du sillon des grains de blé dur n'est pas le fait de champignons mais d'attaques du péricarpe par les Thrips.

Ces erreurs sont bien excusables car, dans beaucoup de cas, les dégâts n'apparaissent qu'au moment où les thrips ont migré sur d'autres plantes ou sont passés dans le sol pour nymphoser.

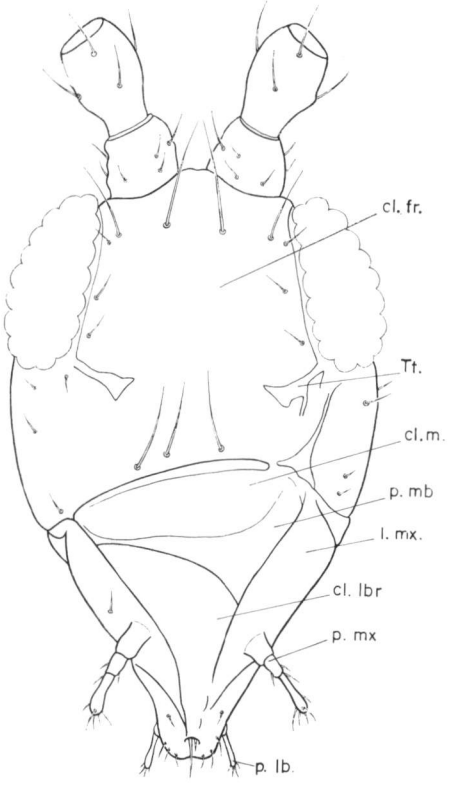


FIG. 1. — *Thrips angusticeps*
Femelle adulte — Tête, vue de face : Cl. fr. : clypéo-front ; Cl. lbr : clypéo-labre ; Cl. m. : clypéus moyen ; lb : labium ; l. mx : lobe maxillaire ; p. lb. : palpe labial ; p. mb. : partie membraneuse ; p. mx. : palpe maxillaire ; Tt : tentorium.

Les déprédations infligées par les Thysanoptères aux plantes cultivées peuvent revêtir de multiples aspects c'est pourquoi nous croyons bon d'en donner un rapide inventaire ainsi que l'essentiel de la bibliographie qui s'y rapporte. Comme il est certain qu'il reste encore beaucoup à découvrir sur les incidences agronomiques de cet ordre, nous pensons que les phytiatres pourront certainement, par comparaison avec ce qui va être exposé, trouver l'agent de dégâts dont l'origine était jusqu'ici énig-

matique. La morphologie et le fonctionnement de l'appareil buccal des Trips déterminent les modalités de leur nuisance, nous allons donc en donner un rapide schéma.

B. — GÉNÉRALITÉS

1. *Appareil buccal*

Les Thysanoptères, présentant un intérêt agronomique, sont des insectes piqueurs. Leurs pièces buccales, transformées en stylets relativement courts, sont logées dans un cône buccal dirigé vers le bas et souvent même vers l'arrière de l'insecte : ce sont des hypognathes.

Ce cône buccal (fig. 1 et 2) est limité par les pièces suivantes :

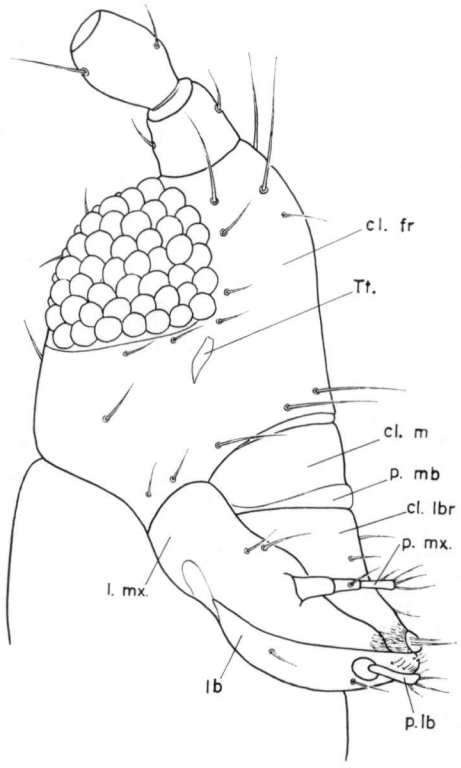


FIG. 2. — *Thrips. angusticeps*

Femelle adulte — Tête, vue de profil : Cl. fr. : clypéo-front ; cl. lbr. : clypéo-labre ; cl. m. : clypeus moyen ; lb. : labium ; l. mx. : lobe maxillaire ; p. lb. : palpe labial ; p. mb. : partie membraneuse ; p. mx. : palpe maxillaire ; Tt. : tentorium.

A la partie antérieure.

— Le clypeus postérieur, fusionné avec le front et formant le clypeo-front *cl-fr.*

— Le clypeus moyen qui s'articule sur le clypeo-front par une région légèrement sclérotinisée *cl. m.* suivie d'une partie membraneuse *p. mb.* ; ces deux zones sont déli-

mitées par un sillon ; c'est à cet endroit que se produit la flexion du cône buccal qui fait saillir la mandibule lors de la prise de nourriture.

— Le clypeus antérieur, fusionné avec le labre, forme un entonnoir dont l'orifice entoure l'extrémité des stylets et les guide au cours de la piqûre.

A la partie postérieure.

— Le labium *lb.* porte deux palpes labiaux *p. lb.* et est composé d'un post-mentum et d'un prementum sclérotinisées et réunis par une membrane mince et assez étroite. Le prementum présente à son extrémité une brosse de soies sensorielles dirigées vers l'avant.

Latéralement le cône buccal est fermé par les lobes maxillaires *l. mx.* qui portent chacun un palpe maxillaire à deux ou trois articles. Les stylets sont au nombre de trois : un mandibulaire, deux maxillaires (fig. 3).

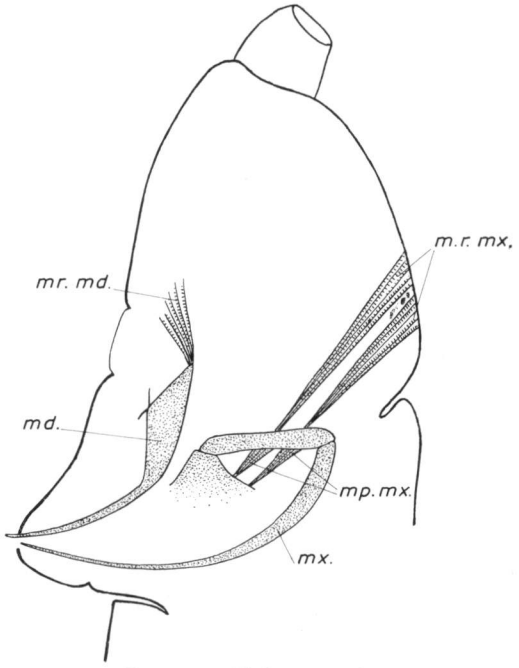


FIG. 3. — *Thrips angusticeps*

Femelle adulte — Schéma montrant le fonctionnement des pièces buccales : md. : stylet mandibulaire ; mp. mx. : muscle protracteur de la maxille ; mr. md., mr. mx. : muscles rétracteurs de la mandibule et de la maxille ; mx : stylet maxillaire.

Mandibulaire. — Il s'agit du stylet gauche, le droit étant à peu près totalement atrophié. Au repos, il fait légèrement saillie à l'extrémité du labre. Il est, sur toute sa longueur, de section circulaire ; la partie apicale est fine et aiguë, la partie basale large. L'axe du stylet est évidé, sa partie basale contenant les noyaux des cellules sécrétrices du stylet, sa partie proximale des expansions cytoplasmiques. La base élargie s'appuie sur le bord inférieur du clypeo-front, elle donne insertion à un muscle rétracteur *mr. md.*, qui prend appui sur la *gena* près de l'œil, mais on ne connaît pas actuellement de muscle protracteur. Le stylet glisse dans l'espace intergnatal, c'est-

à-dire entre le clypeo-labre et le lobe maxillaire. C'est dans ce « sac mandibulaire » que s'ouvre le canal déférent de la glande mandibulaire.

Maxillaires. — Ces stylets pairs correspondent aux *laciniae*. Ils sont nettement plus longs que la mandibule et ont une section en forme de C. Leur juxtaposition forme ainsi un tube d'aspiration. La base de chaque stylet est en liaison avec le lobe maxillaire par l'intermédiaire d'un levier articulaire sur lequel viennent agir les filets musculaires moteurs. Les muscles rétracteurs *mr. mx.* s'insèrent par ailleurs sur la limite latérale du vertex et de la *gena* tandis que les muscles protracteurs *mp. mx.* se fixent sur la partie antérieure du lobe maxillaire, en réalité, sur le *stipes*.

Hypopharynx. — L'hypopharynx, qui sépare le cibarium du salivarium, est fortement sclérotinisé. Chez les Tubulifères il est court et large mais chez les Térébrants il est très long. Son extrémité apicale est alors aiguë et il présente à sa base un sillon qui se continue le long du cibarium, très dur lui aussi. Dans ce sillon coulisse la mandibule droite. Il semble donc que l'hypopharynx, muni lui aussi de muscles protracteurs et rétracteurs, puisse se comporter comme un stylet lors de la prise de nourriture.

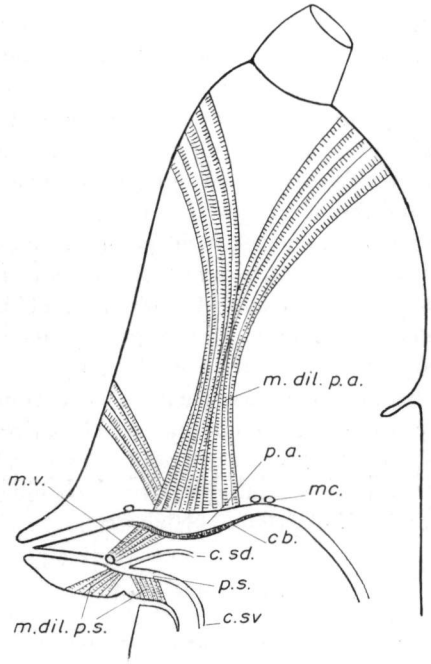


FIG. 4. — *Thrips angusticeps*

Femelle adulte — Schéma montrant le fonctionnement des pompes salivaire et alimentaire : cb : cibarium ; c. sd, c. sv : canaux des glandes salivaires dorsales et ventrales ; mc. : muscles circulaires ; m. dil. p. a. ; m. dil. ps. : muscles dilatateurs de la pompe alimentaire et de la pompe salivaire ; m. v. : muscle de la valvule ; p. a. : pompe alimentaire ; p. s. : pompe salivaire.

Pompe salivaire et pompe alimentaire (fig. 4). — Comme chez le grand ordre voisin, les Rhynchotes, on trouve chez les Thysanoptères une pompe salivaire et une pompe alimentaire. La face supérieure de l'hypopharynx s'épaissit et se durcit fortement, affectant en coupe transversale la forme d'un V. La paroi supérieure du cibarium est

molle, elle est sollicitée vers le haut par la contraction de muscles dilatateurs. Par ailleurs, des muscles en anneau formant sphincter entourent l'entrée et la sortie de ce cibarium. Il est aisé de comprendre le fonctionnement d'un tel organe.

Le canal salivaire débouche sur la face inférieure de l'hypopharynx. Il est constitué, à son terme, par une partie durcie qu'obture une valvule commandée par un muscle inséré sur la face inférieure du cibarium. Dans cette pompe salivaire débouchent les canaux excréteurs de deux paires de glandes salivaires (*c. sd.* et *c. sv.*) :

— une paire de glandes salivaires dorsales de forme globuleuse logée dans le thorax ;

— une paire de glandes salivaires ventrales très allongées et presque tubulaires atteignant les premiers segments abdominaux. Le plancher de la pompe est sollicité par deux muscles dilatateurs dont les extrémités se fixent respectivement au prementum et au post-mentum. L'ensemble forme un puissant appareil d'injection de salive.

2. *Prise de nourriture*

Ce sont surtout les piqûres de nutrition des larves du 1er et du 2e stade et des adultes qui causent les dégâts sur les plantes cultivées. Contrairement à ce qui se passe pour d'autres insectes piqueurs les Thrips ne se nourrissent pas de sève. L'insecte pique, injecte sa salive qui produit un début de lyse des contenus cellulaires, puis il en aspire le produit à l'aide de sa puissante pompe buccale. Tous les auteurs qui se sont intéressés aux stylets des Thysanoptères ont donné une explication de leur fonctionnement. La dernière en date est celle de H. Risler (1957) pour *Thrips physapus*. L'insecte, fléchissant les pattes antérieures, vient poser à la surface de la feuille l'extrémité de son rostre constituée par le tube terminal du labre. Par un mouvement de flexion et d'extension des pattes, il lacère cet épiderme à l'aide de la mandibule qui sort du rostre. Simultanément la mandibule glisse peu à peu dans la gouttière creusée sur le flanc droit de l'hypopharynx et pénètre de plus en plus dans les tissus végétaux atteignant les cellules du parenchyme sous-jacent. Sous l'action de son muscle rétracteur la mandibule se retire et la pompe salivaire injecte la salive. Poussées par l'action de leur muscle protracteur sur leur levier articulaire les maxilles font saillie à leur tour et leurs deux stylets à section semi-circulaire s'appliquent l'un contre l'autre formant un tube d'aspiration des contenus cellulaires.

3. *Caractères des dégâts*

L'action mécanique de la piqûre est, par elle-même, peu destructrice, il s'agit généralement d'une cellule de l'épiderme et d'une ou deux du parenchyme sous-jacent. C'est, par contre, l'injection de salive qui cause vraiment le dégât. On savait déjà que celle-ci peut être toxique pour les tissus et provoquer, dans certains cas, des réactions du végétal et la formation de cécidies, W. Kloft et P. Ehrahrt (1959) ont montré par l'utilisation de traceurs radio-actifs (P^{32}) que cette salive diffuse largement à travers les parois cellulosiques, envahit et détruit toute une plage de cellules entourant la piqûre. Le cytoplasme des cellules mortes se déshydrate et celles-ci, perdant leur coloration, prennent d'abord une teinte blanc nacré puis brunissent peu à peu. Ces nécroses superficielles sont souvent le fait de Thysanoptères, cependant elles

peuvent avoir d'autres causes : brûlures provoquées par l'emploi de pesticides, frottement contre des branches et action d'acariens phytophages, en particulier de *Tetranychidae*. Il est donc parfois difficile lorsqu'on examine une lésion de ce genre de l'attribuer avec certitude à des piqûres de Thrips. En effet, bien que très souvent, lors de l'examen de cultures attaquées, on trouve encore des insectes lorsque le dégât devient apparent, ce n'est pas toujours le cas comme nous le verrons par exemple pour les nécroses épidermiques sur pêches velues dans la vallée du Rhône.

D'autre part, alors que certaines espèces sont strictement inféodées à une culture (*Taeniothrips dianthi* PR., thrips de l'Œillet, *Taeniothrips simplex* MOR., Thrips du Glaïeul, *Gynaikothrips ficorum* MARCHAL, Thrips du Ficus, *Odontothrips confusus* PR. Thrips de la Luzerne, *Thrips linarius* UZEL, Thrips du Lin) d'autres sont très polyphages : *Thrips angusticeps* UZEL peut vivre sur Lin, sur Blé, sur Moutarde etc., *Thrips tabaci* LIND. le plus éclectique de tous se trouve sur plus de trois cents espèces végétales.

Un autre caractère remarquable des Thysanoptères est que la même espèce peut être nuisible à une culture dans une région et absolument inoffensive dans l'autre ; c'est le cas pour *Kakothrips robustus* UZEL qui fait des dégâts considérables sur Pois dans le nord de la France alors qu'au sud du méridien de Valence il n'attaque guère cette plante. *Scirtothrips citri* MOULT. très nuisible aux agrumes en Afrique du Sud ne cause aucun dommage en Égypte où il est pourtant assez abondant. Depuis longtemps on sait aussi que *Taeniothrips inconsequens* UZEL, le « Pear Thrips » des Anglo-Saxons est très nuisible en Californie où avant l'apparition des insecticides de synthèse il détruisait de nombreux vergers alors qu'en Europe, sous des climats comparables, il n'est guère nuisible. Enfin, le cas le plus typique est celui de *Thrips tabaci* LIND. Cette espèce pullule dans toute la zone tempérée et subtropicale de l'Hémisphère nord. En Turquie, en Grèce, par exemple, de nombreuses variétés de Tabac sont attaquées, par contre, aucun dégât n'est enregistré en France sur les mêmes cultivars. L'une des hypothèses qui nous paraît la plus vraisemblable, et qui est d'ailleurs en cours de confirmation, est la suivante : les conditions climatiques amènent pour une même variété de tabac des teneurs variables en glucides, ce qui rend les feuilles plus ou moins attractives pour les insectes.

C. — TYPES DE DÉGATS DE THYSANOPTÈRES

Les dégâts de Thysanoptères peuvent prendre des aspects très variés. Leur forme dépend d'un certain nombre de facteurs, parmi lesquels on peut citer :

— la nature de l'organe végétal atteint ;
— son état végétatif ;
— la toxicité de la salive de l'espèce considérée par rapport à sa plante hôte.

I. — *Dégâts directs*

1. *Sur feuilles à épiderme fortement cutinisé et au terme de leur croissance.*

C'est le cas le plus simple. On observe seulement à la surface des feuilles des plages de cellules vides de leur contenu et qui ont perdu leur coloration. D'abord d'un

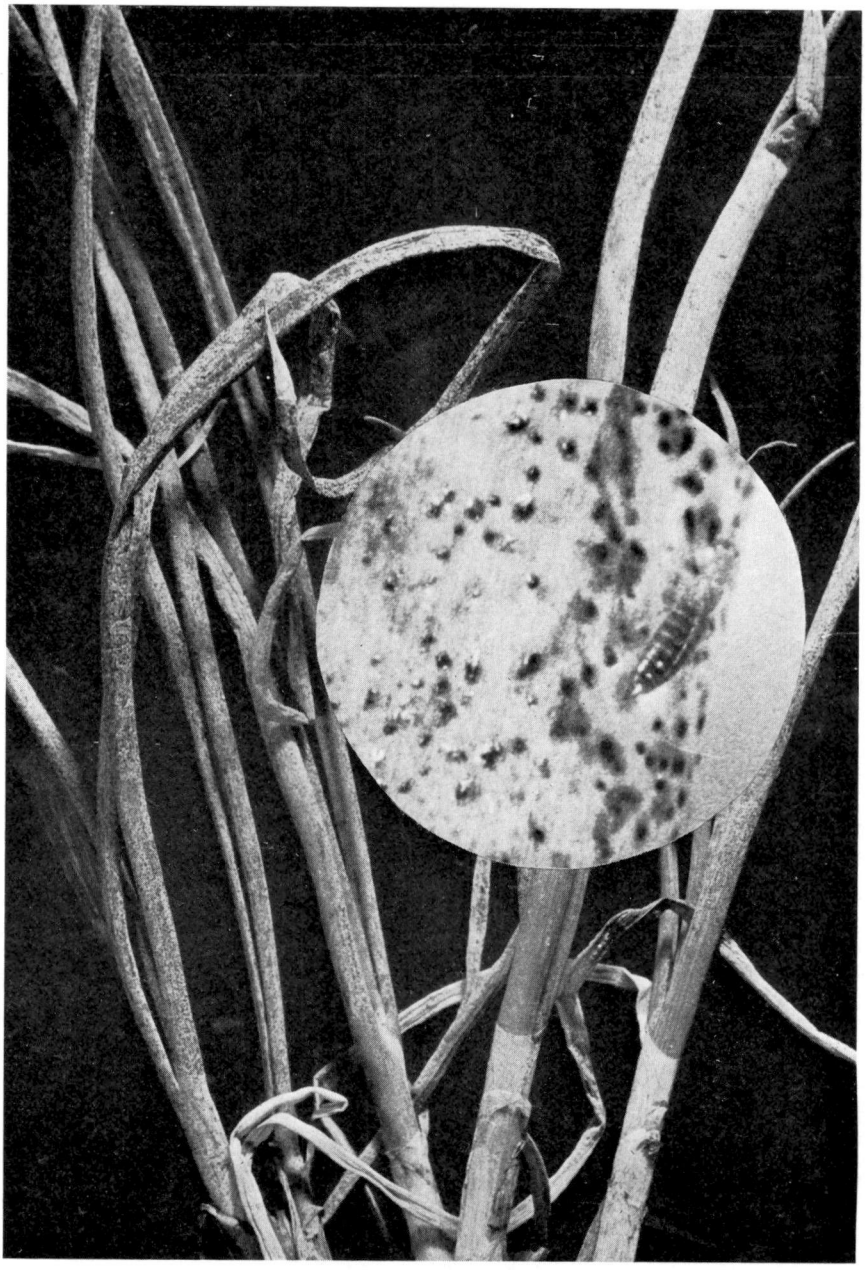


FIG. 5. — *Dégâts de* Thrips tabaci LIND. *sur Oignon*
En médaillon : femelle en train de se nourrir sur une feuille.
Les déjections ont l'aspect de gouttelettes brunes

blanc nacré, ces taches deviennent peu à peu brun clair. Dans le cas où l'attaque est importante les feuilles se dessèchent et tombent.

Ce dégât peut être confondu avec celui que font les Acariens lorsque, l'échantillon s'étant desséché, les insectes ont disparu. Mais, outre les exuvies larvaires qui peuvent parfois s'y trouver, on note pour la plupart des espèces, des gouttelettes

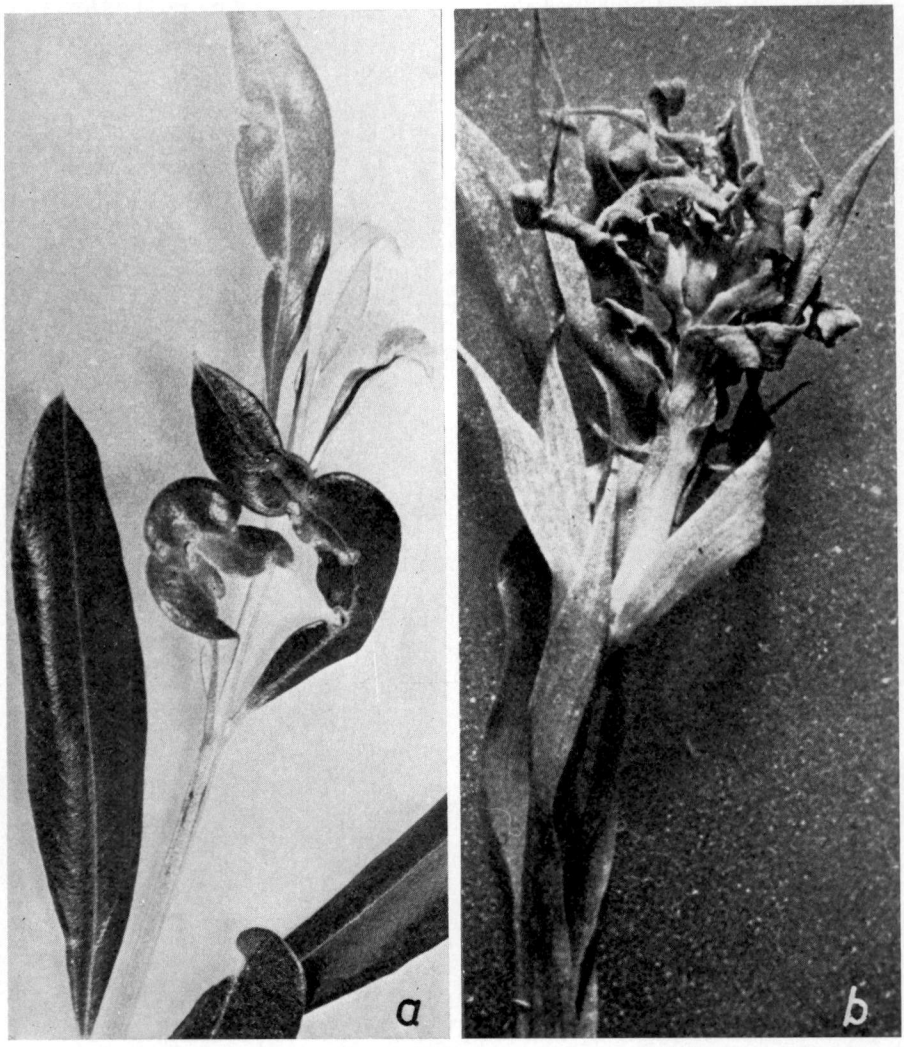


FIG. 6. — a) *Dégâts de* Liothrips oleae COSTA *sur Olivier*
b) *Dégâts de* Thrips angusticeps UZEL *sur lin* : « *Mauvaise tête* »

d'une matière brune et transparente qui sont des déjections de larves ou d'adultes de thrips (fig. 5). Un tel dégât est souvent observable sur les cultures en serre (MOULTON, 1928) où deux espèces polyphages *Heliothrips haemorrhoidalis* BOUCHE et *Parthenothrips dracaenae* HEEGER infligent souvent de gros dégâts aux cultures ornementales les plus diverses (*Ficus, Phyllodendron, Croton, Dracaena, Phlox* etc.). Les feuilles de

Citrus et de certaines cultures tropicales (Café, Cacao) peuvent aussi être attaquées de la même façon.

2. *Sur feuilles en cours de croissance.*

C'est exceptionnellement que les Thrips piquent des épidermes déjà cutinisés. Le plus souvent ils s'attaquent à des organes tendres en cours de développement.

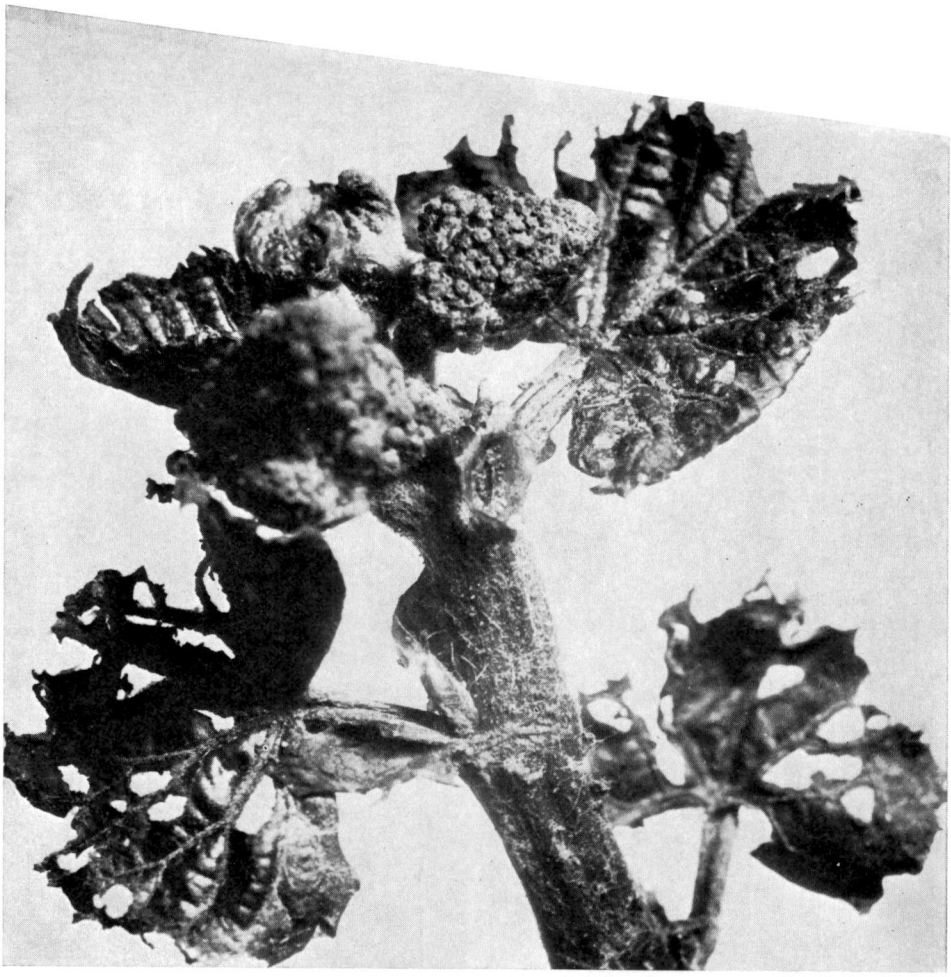


FIG. 7. — *Dégâts de* Drepanothrips reuteri UZEL *sur Vigne* (hybride n° 12375)

Ce sont surtout les jeunes feuilles qui sont recherchées par les insectes et les réactions de celles-ci à la toxicité de la salive vont donner suivant l'espèce végétale et même la variété considérée des lésions d'aspects divers.

Si la salive ne diffuse que dans les couches superficielles, la feuille continue à croître normalement et seules des taches blanches ou brunes trahissent l'action des Thrips. C'est le cas pour la plupart des vignes françaises (*Cinsaut, Carignan, Cabernet-Sauvignon* etc.) attaquées par *Drepanothrips reuteri* UZEL (A. BOURNIER, 1957 et

1962). Au contraire, le limbe est détruit dans toute son épaisseur chez certains cépages hybrides (12 375 par exemple). Les tensions qui résultent de la croissance de la feuille déchirent cette partie nécrosée qui tombe (fig. 7). La feuille présente alors autant de perforations, et les nervures principales restant rapprochées, on obtient le curieux aspect de parapluie à demi fermé.

Sur Oignon *Thrips tabaci* LIND. peut parfois détruire toutes les cellules épidermiques et la feuille se dessèche alors complètement (fig. 5) (A. GHABN, 1948).

Dans d'autres cas, le limbe détruit reste en place mais, le développement étant freiné dans la partie atteinte, la feuille devient sinueuse. Ces déformations sont produites sur Olivier (fig. 6 *a*) par *Liothrips oleae* COSTA (A. MELIS, 1934), sur Œillet (fig. 17 *b*) par *Taeniothrips dianthi* PR. (J. PELIKAN, 1951), sur Lin (fig. 6 *b*) par *Thrips angusticeps* UZEL (L. BONNEMAISON et A. BOURNIER, 1964).

Certaines espèces végétales réagissent aux piqûres de Thrips en donnant de véritables galles. On en connaît de très nombreux exemples pour la flore tropicale, cependant on observe en Afrique du Nord une cécidie d'enroulement de feuille : il s'agit de celles qui sont provoquées par *Gynaikothrips ficorum* MARCHAL sur *Ficus nitida* (fig. 8 *b*) (P. MARCHAL, 1908). Le développement complet de l'insecte s'effectue à l'intérieur de l'abri ainsi constitué. En Europe des cécidies moins typiques sont produites par *Anaphothrips euphorbiae* UZEL sur les feuilles de *Euphorbia cyparissias* (C. FRANSSEN et MANTEL, 1967). Mais il n'y a pas comme dans le cas précédent élaboration d'anthocyanes.

3. *Sur tiges.*

Il s'agit évidemment de piqûres faites au moment où les tissus épidermiques sont encore très tendres. Elles produisent les mêmes subérisations que sur feuilles. Ces atteintes persistent après aoûtement. On les observe facilement sur Vigne (A. BOURNIER, 1957).

4. *Sur bourgeons terminaux.*

Grâce à leur faible taille les Thrips peuvent s'introduire jusqu'au cœur des bourgeons terminaux. Leurs piqûres détruisent les folioles et le méristème apical. Sur coton on assiste alors à des fontes de semis tout à fait spectaculaires lorsque *Thrips tabaci* attaque les cultures au stade cotylédonnaire ou à celui des toutes premières feuilles (A. BOURNIER et R. COUILLOUD, 1968). Sur Lin (*Thrips angusticeps* UZEL) il y a production de plantes « trifurquées » (fig. 8 *a*) qui donnent des fibres beaucoup trop courtes (L. BONNEMAISON et A. BOURNIER, 1964).

5. *Sur fleurs.*

a) *Pétales.*

De nombreuses cultures florales pâtissent des attaques de Thrips. Citons, par exemple, pour les Roses *Thrips fuscipennis* HAL., les Glaïeuls *Taeniothrips simplex* MORISON (A. BOURNIER, 1954), les Lilas *Taeniothrips meridionalis* PR., les Œillets *Taeniothrips dianthi* PR. et *Haplothrips cottei* VUILL. Les pétales présentent des taches blanches qui brunissent et, par la suite, font place à des perforations (fig. 9 *a*, *b c*, et 10 *b*). Lorsque les insectes pénètrent dans le bouton floral avant son épanouissement la fleur est complètement détruite et on a, en particulier sur Œillet, un curieux dégât en « tête d'oiseau » (fig. 10 *a*) (PELIKAN, 1951).

Sur la Luzerne, c'est la carène qui est le plus gravement atteinte (fig. 9 *d*). Elle se dessèche et les butineuses ne pourront plus déclencher le mécanisme qui, faisant jaillir la colonne génitale de la fleur, assure sa pollinisation. L'action des Thrips provoque, pour une bonne part, la stérilisation des fleurs de Luzerne (BOURNIER et KOCHBAV, 1965).

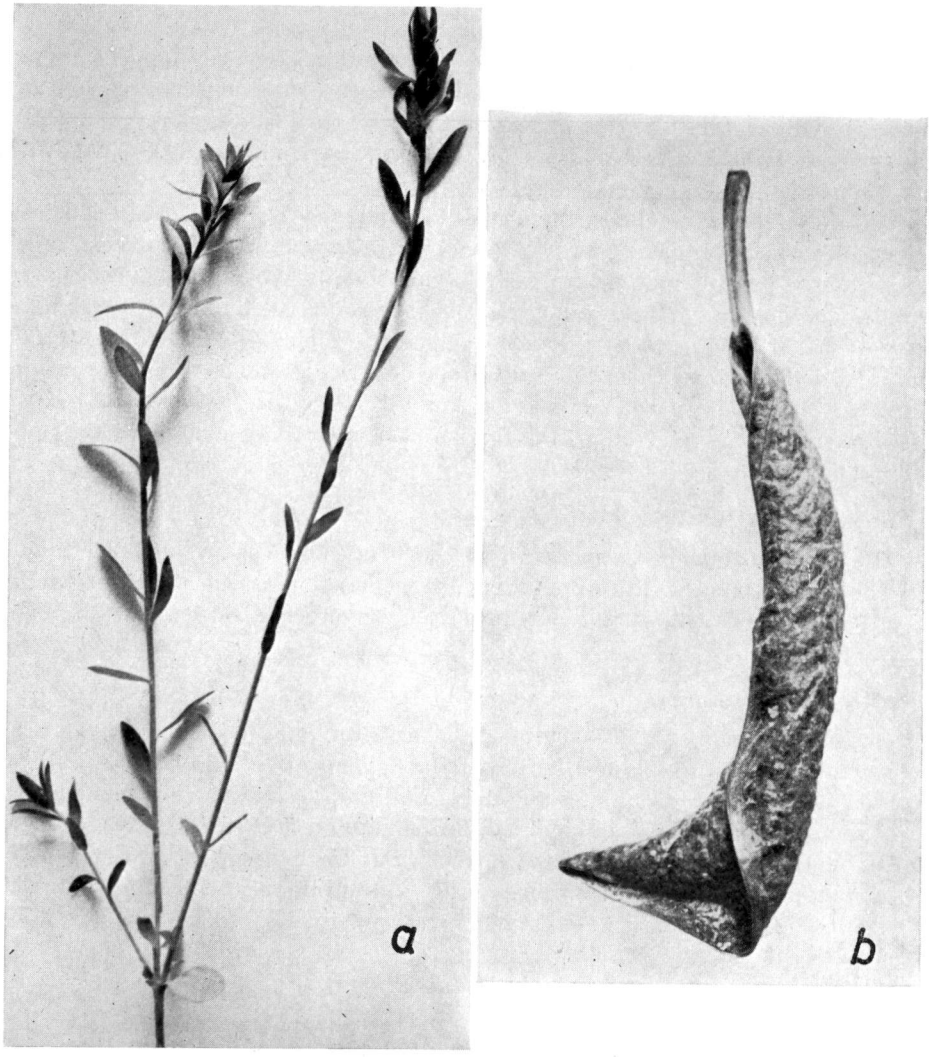


FIG. 8. — a) *Dégâts de* Thrips angusticeps UZEL *sur Lin*
Les piqûres détruisent en partie le bourgeon terminal au stade cotylédonnaire et la jeune plante émet des tiges axillaires : « lin trifurqué ».
b) Formation de cécidies sur feuilles de Ficus nitida *à la suite de piqûres de* Gynaikothrips ficorum MARCHAL.

b) *Étamines.*

Une seule piqûre sur le filet suffit parfois à détruire complètement l'étamine. En outre, certains auteurs ont observé que plusieurs espèces de Thrips floricoles se

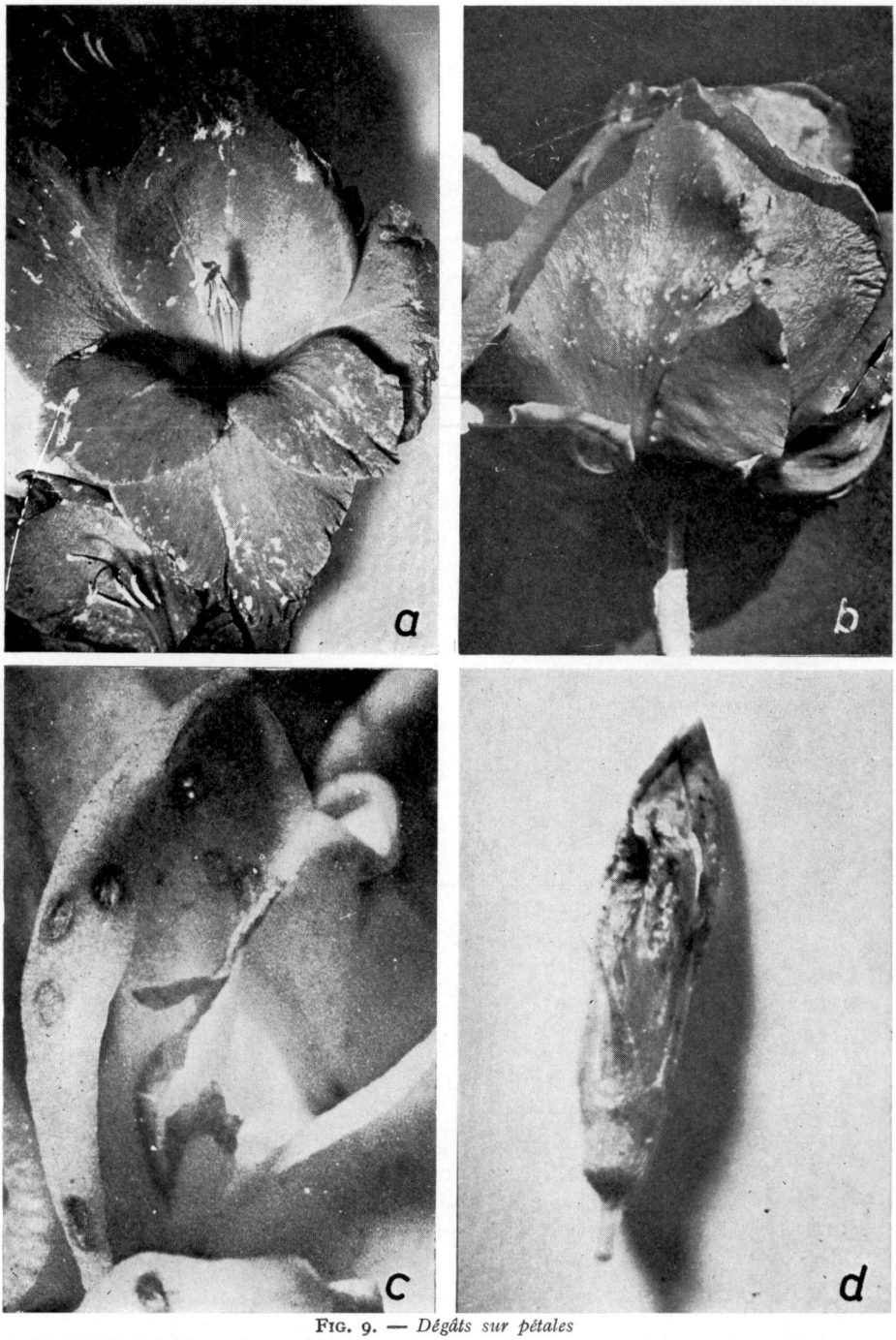


FIG. 9. — *Dégâts sur pétales*

a) *Taeniothrips simplex* MOR. sur Glaïeul.
b) *Thrips fuscipennis* HAL. sur Rose.
c) *Taeniothrips meridionalis* PR. sur Lilas.
d) *Odontothrips confusus* PR. sur Luzerne.

nourrissent de pollen lors de la déhiscence des anthères : *Thrips imaginis* BAG. sur fleurs de pommier en Australie (ANDREWARTHA et KILPATRICK, 1953), *Haplothrips niger* OSB. sur les fleurs du trèfle en France (C. LOAN et F. G. HOLDAWAY, 1955 et RAZAGHI, 1965).

FIG. 10. — *Dégâts de* Taeniothrips dianthi *sur Œillet*

a) Le bouton floral est détruit avant son épanouissement : dégât en « tête d'oiseau ».

b) Les pétales des fleurs épanouies sont marqués de taches blanches.

c) *Pistil.*

Liothrips oleae COSTA piquant le pistil provoque une coulure considérable des fleurs d'Olivier (MELIS, 1934).

Kakothrips robustus UZEL pique aussi l'ovaire et provoque la destruction de cer-

taines parties de la jeune gousse. Au cours du développement celle-ci se déforme et ne contient très souvent que fort peu de graines : figure 13 *b* (C. BUHL, 1936).

d) *Pédoncule floral.*

Sur Vigne le pédoncule floral est d'assez faible diamètre. Les piqûres de *Drepanothrips reuteri* provoquent suivant les cépages un millerandage ou une coulure (fig. 12 *a*).

e) *Cavité stylaire.*

Chez les Rosacées fruitières à ovaire infère le style s'insère au fond du calice dans

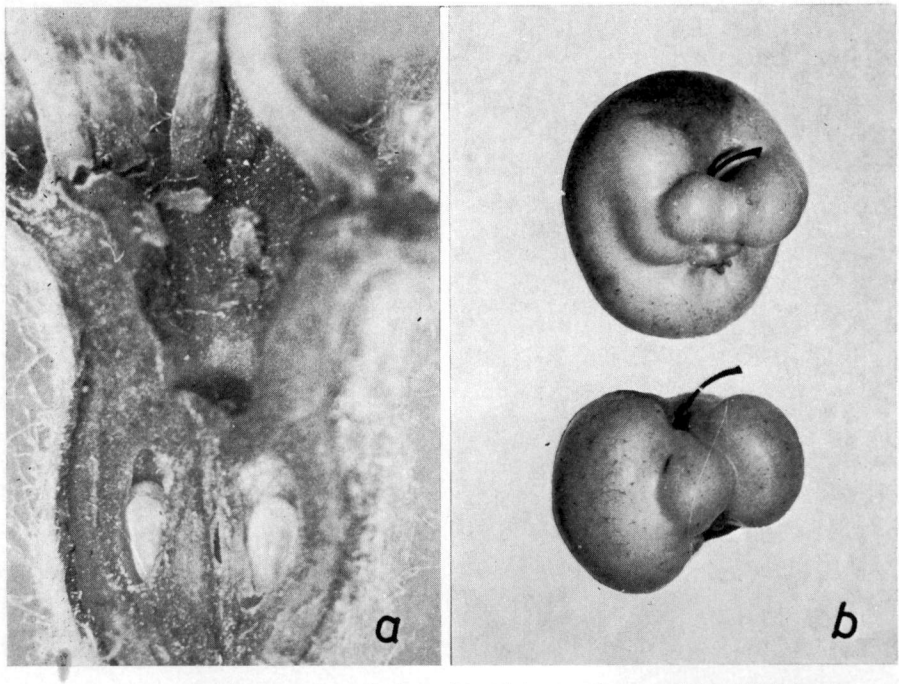


FIG. 11. — *Dégâts par piqûre de la cavité stylaire sur Pommes* Golden Delicious

a) Coupe d'une fleur au stade « chute des pétales » montrant trois larves du 2e stade en train de piquer les tissus de la cavité stylaire.

b) Les fruits attaqués présentent des déformations qui intéressent uniquement la périphérie de l'œil.

une cavité souvent assez profonde suivant l'espèce et la variété. Sur les Pommes de la variété *Golden Delicious* des déformations souvent considérables sont produites au moment de la nouaison. Les larves de Thrips piquent et détruisent dans la cavité stylaire des groupes de cellules dont le développement aurait donné une partie de la pulpe du fruit (fig. 11 *a*). On observe donc une déformation qui s'accentue de plus en plus à mesure que la pomme grossit et qui se situe toujours du côté de l'œil du fruit (fig. 11 *b*). Cette dernière remarque permet de distinguer le dégât de Thrips d'une virose bien connue le *Green crinkle* qui intéresse toutes les parties de la pomme (non encore publié).

6. *Sur fruits.*

a) *Sur jeunes fruits.*

Ce sont surtout les jeunes fruits qui sont attaqués car leur épiderme est encore tendre. Suivant la réaction du végétal on enregistre soit des déformations de fruit soit des subérisations de l'épiderme.

Dans la vallée de l'Eyrieux (Ardèche) les pêches de la variété *Ribet* sont piquées peu après la chute des pétales par les larves de *Taeniothrips meridionalis* PR. Cette

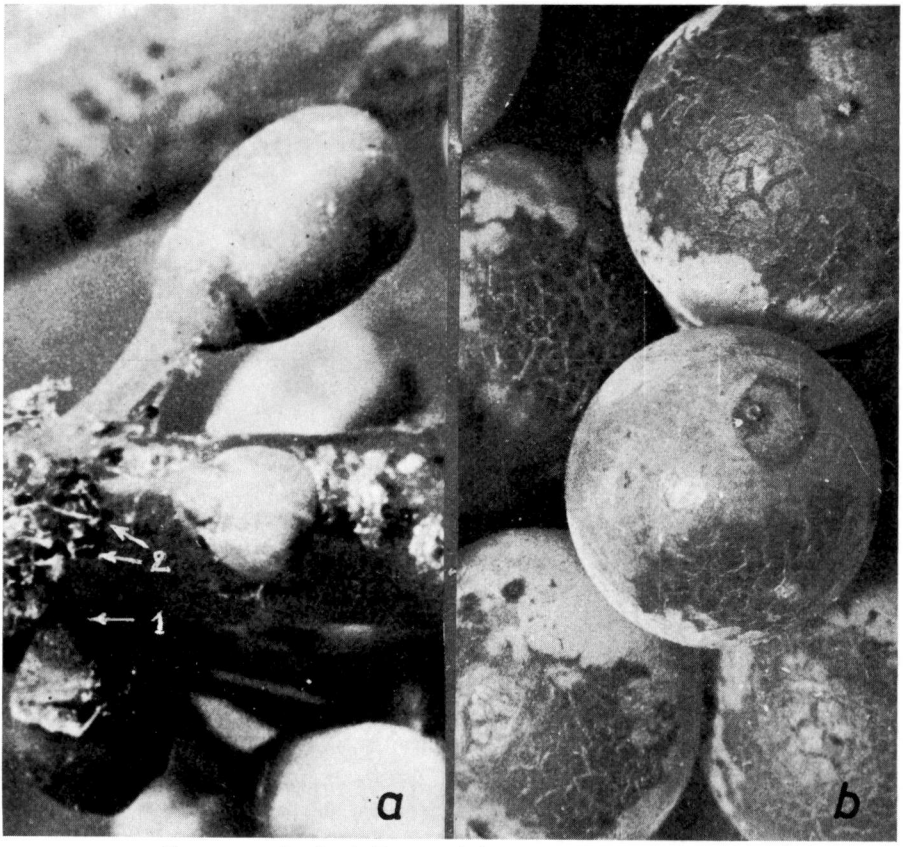


FIG. 12. — *Dégâts de* Drepanothrips reuteri UZEL *sur Vigne*
a) Piqûres sur pédoncule floral. La fleur se dessèche et tombe (1). Deux autres fleurs sont déjà tombées (2).
b) Subérisation de l'épiderme des baies.

destruction de l'épiderme est cachée par la pilosité (fig. 14 *a*) mais, lorsque le fruit atteint la grosseur d'une petite amande, la partie nécrosée tombe et on voit apparaître des plages subérisées (fig. 14 *b*). Le développement de la pulpe est fortement entravé au niveau des cicatrices et les pêches, au moment de la récolte, présentent des déformations considérables qui nuisent beaucoup à leur commercialisation (fig. 14 *c* et *d*) (BOURNIER et BLACHE, 1958). L'origine de ce dégât est restée longtemps énigmatique. En effet, lorsque la nécrose devient apparente, les larves de Thrips ont migré dans le sol où elles effectuent leur nymphose.

D'autres variétés de Pêches, les *Nectarines* en particulier, sont l'objet d'attaques analogues mais seul l'épiderme du fruit est subérisé (fig. 15 *b*), la pulpe se développe normalement. Le même dégât se retrouve sur Prunes et sur Cerises (fig. 15 *c* et *d* ; *Taeniothrips inconsequens* UZEL), sur Raisins (fig. 12 *b* ; *Drepanothrips reuteri* UZEL), sur Agrumes (fig. 15 *a* ; *Thrips major* PR.) (A. BOURNIER, 1963).

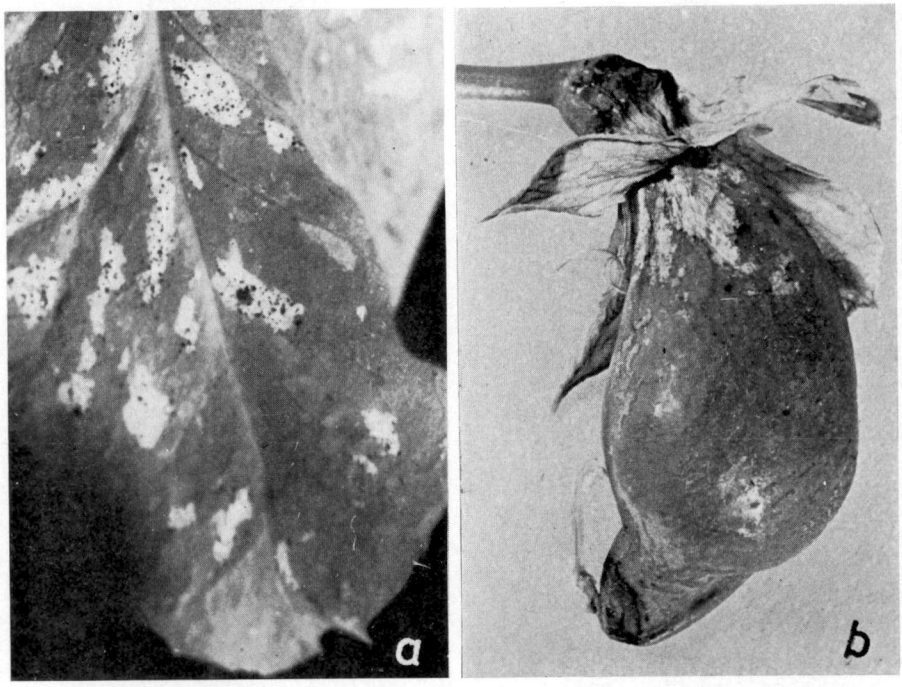


FIG. 13. — *Dégâts de* Kakothrips robustus UZEL *sur Pois*

a) Feuille attaquée. On aperçoit au milieu des taches blanches les macules noires des déjections.
b) Gousse piquée à l'apex et à la base. Une seule graine s'est formée.

b) *Sur péricarpe.*

Une brunissure du péricarpe du sillon des grains de blé avait depuis longtemps été l'objet de controverses. Il a été récemment établi (P. BERNAUX et A. BOURNIER, 1968) qu'il ne s'agit pas de champignons, les péricarpes sains portant les mêmes espèces que ceux présentant le dégât. Cette « moucheture », d'autant plus grave qu'il est impossible de l'éliminer par blutage, est le résultat des piqûres de larves d'*Haplothrips tritici* KURDJ. (fig. 16 *b*).

7. *Sur bulbes.*

Bien que les bulbes de Lys soient assimilables à un ensemble de feuilles charnues et ceux de Glaïeul à un rhizome nous grouperons dans un même paragraphe les dégâts infligés à ces deux espèces.

Sur le Lys (*Liothrips vaneeckei* PR.) les Thrips piquent les écailles superficielles. Certains microorganismes du sol pénètrent par les plaies ainsi pratiquées et amènent rapidement dans les cas les plus graves la décomposition du bulbe (R. SCHOPP, 1936 et E. TITSCHAK, 1960).

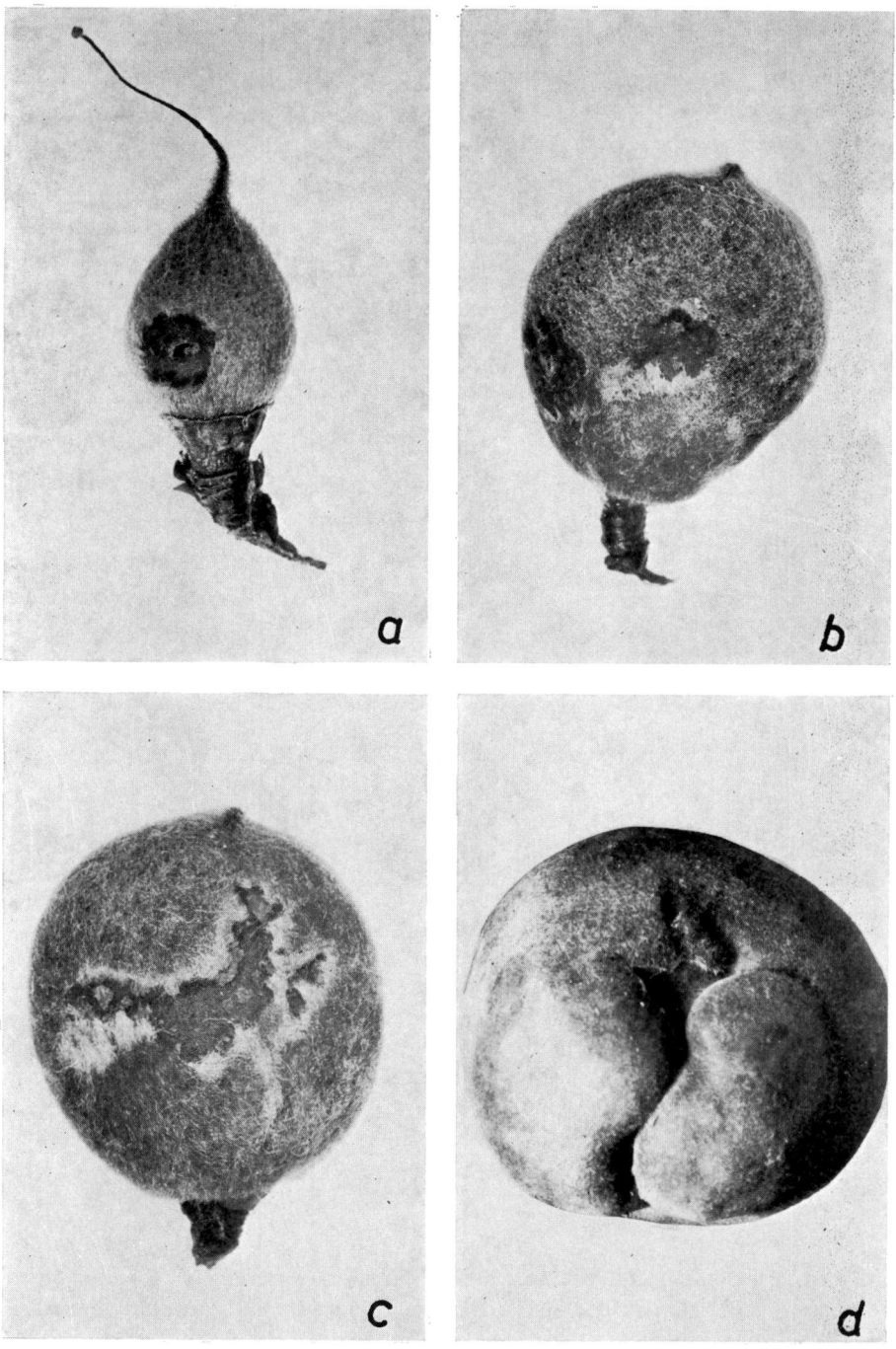


FIG. 14. — *Dégâts de* Taeniothrips meridionalis PR. *sur Pêches* Ribet

a) La pilosité épidermique a été ôtée pour montrer la destruction de l'épiderme et des cellules sous-jacentes à la suite des piqûres de Thrips.

b) Stade d'apparition du dégât.

c et *d*) Deux stades de la croissance du fruit attaqué.

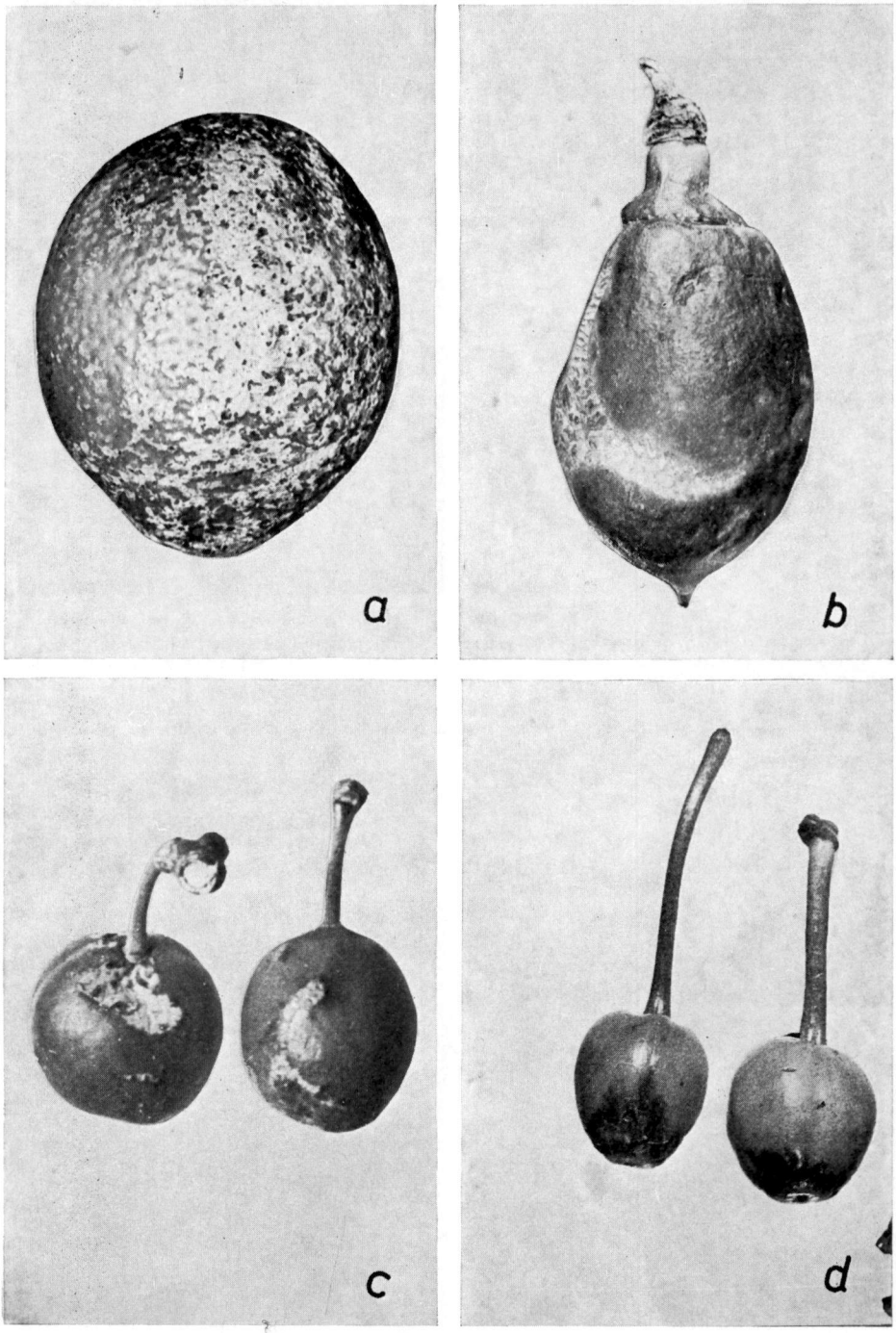


FIG. 15. — *Dégâts sur fruits*

a) Sur Citron (*Thrips major* PR.).
b) Sur Nectarine (*Taeniothrips meridionalis* PR.).
c) Sur Prunes (*Taeniothrips inconsequens* UZEL).
d) Sur Cerises (*Taeniothrips inconsequens* UZEL).

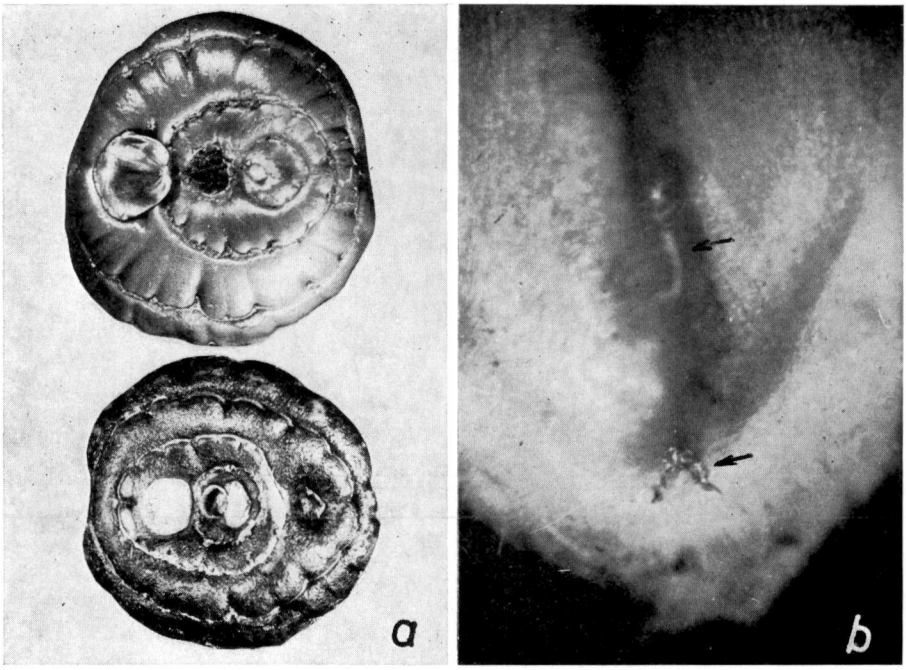


FIG. 16. — a) *Dégâts de* Taeniothrips simplex MOR. *sur bulbes de Glaïeul*

Bulbe sain (en haut). Bulbe attaqué (en bas). Ce dernier présente une surface rugueuse et noirâtre. Le capuchon qui a protégé le bourgeon des attaques de thrips a été enlevé pour montrer la différence de coloration entre épiderme sain et épiderme piqué. Noter en outre une très nette diminution de taille du bulbe atteint.

b) Dégâts d'*Haplothrips tritici* KURDJ. sur péricarpe du grain de blé. Brunissure du péricarpe. Les flèches indiquent des exuvies larvaires.

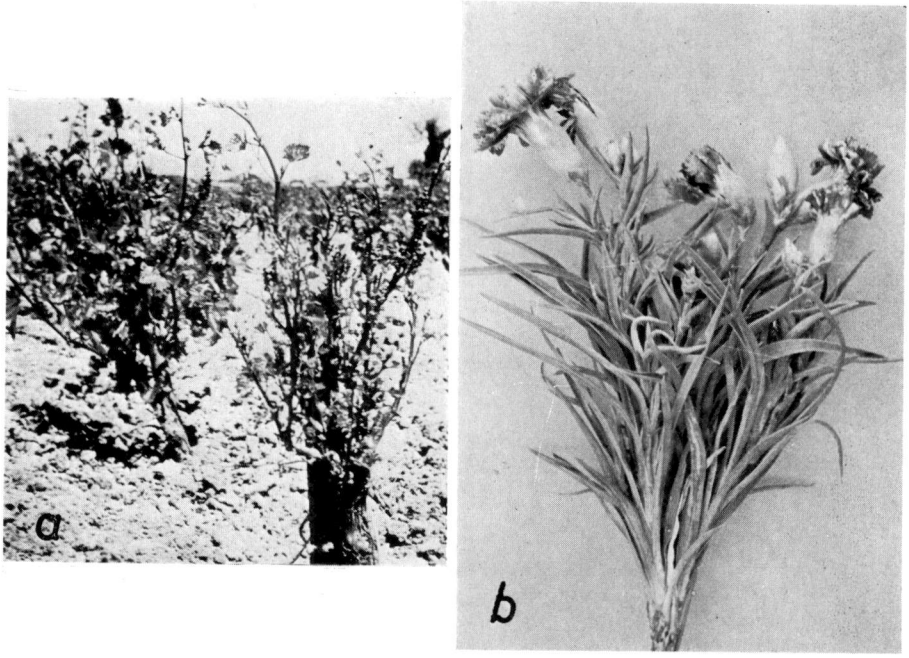


FIG. 17. — *Toxicoses*

a) Sur *Vigne*. La souche au premier plan a subi un retard de végétation très net par rapport à la suivante. Les entre-nœuds sont courts.

b) Sur *Œillets*. Outre des déformations de feuilles dues à l'action directe des piqûres, on observe un raccourcissement des tiges et un port buissonnant de la plante.

Sur le Glaïeul (*Taeniothrips simplex* MOR.) les blessures infligées à l'épiderme provoquent une déshydratation et une perte considérable de substance ainsi qu'un brunissement très caractéristique (fig. 16 *a*) (A. BOURNIER, 1954).

8. *Toxicoses.*

Lorsque les piqûres sont faites sur de très jeunes tiges et parfois même tout près des méristèmes apicaux, il peut y avoir, suivant les espèces, une véritable toxicose induite par la salive de l'Insecte.

Sur Œillet (*Taeniothrips dianthi* PR.) on observe, outre les distorsions de feuilles signalées plus haut, un raccourcissement considérable des entre-nœuds et un port buissonnant de la plante (fig. 17 *b*). Sur les jeunes pousses de vigne et en particulier sur cépages hybrides les symptômes sont tout à fait analogues et rappellent beaucoup ceux du court-noué (fig. 17 *a*). Cependant, dans la plupart des cas, cette toxicose s'atténue beaucoup à mesure que la végétation progresse et elle disparaît parfois complètement (A. BOURNIER, 1957).

II. — *Dégâts indirects : transports d'agents pathogènes*

a) *Champignons.*

C'est récemment qu'ont été signalés en Europe des transports de champignons pathogènes par les Thrips.

Les spores sont véhiculées par les insectes et les blessures à l'épiderme faites soit par les pièces buccales, soit par la tarière au cours de la ponte, facilitent beaucoup l'installation du champignon. C'est ainsi qu'en Yougoslavie M. PENO (1967) a observé le transport de *Dotychiza populea* qui provoque la maladie des taches brunes du Peuplier. En Italie, P. GRANCINI (1963) a montré que *Frankliniella intonsa* contamine le Maïs avec *Ustilago maydis* qui est la cause de la maladie du Charbon. Dans ce dernier cas d'ailleurs, une des preuves de l'action du vecteur est la multiplicité des points de pénétration de l'agent pathogène.

b) *Bactéries.*

BAILEY (1935) a signalé que *Hercothrips femoralis* REUTER était vecteur d'une bactérie pathogène du Haricot, tandis que *Taeniothrips inconsequens* UZEL transportait *Bacillus amylovorus*.

c) *Virus.*

On ne connaît encore que peu d'espèces de Thysanoptères vecteurs. Ceci tient sans doute au fait que cet aspect de leur nuisance a encore été assez peu étudié. Jusqu'ici seul le virus du *spotted wilt* paraissait être transmis par quatre espèces de thrips : *Thrips tabaci* LIND. pour l'Hémisphère nord, les trois autres espèces appartiennent au genre *Frankliniella*. *F. schultzei* TRYB. pour l'Hémisphère sud et une partie du Sahara, *F. fusca* HINDS et *F. occidentalis* PERG. pour l'Amérique du Nord (SAKIMURA, 1954).

Tout récemment MESSIEHA (1969) a signalé que le virus du Ring spot du Tabac bien que déjà connu pour être transmis par le Nématode *Xiphinema americanum* COBB, pouvait l'être aussi par *Thrips tabaci* LIND. Il s'agit, dans les deux cas, de virus persistants, la larve s'infeste et, après une période d'incubation de plusieurs jours, c'est généralement l'adulte qui est vecteur.

D. — CONCLUSIONS

Ce rapide exposé des aspects si divers des dégâts causées aux plantes cultivées par les Thysanoptères permet de penser que des investigations ultérieures devraient permettre d'attribuer à ce groupe d'insectes d'autres dégâts dont l'origine est actuellement mal connue. Nous avons, par exemple, observé que les déformations de fraises (« cat face »), parfois dues à des causes physiologiques, peuvent être aussi le résultat des piqûres de Thrips sur le jeune fruit.

Mais c'est sans doute le chapitre des transports d'agents pathogènes qui risque de réserver les plus grosses surprises. L'accent a été mis ces dernières années sur le rôle des Thrips dans la diffusion des mycoses des végétaux. De même, les seules recherches récentes sur les Thysanoptères vecteurs de virus ayant été effectuées aux îles Hawaï par SAKIMURA, 1954, nul doute qu'en Europe il ne soit possible de mettre en évidence de nouvelles transmissions. Il est aussi normal de penser que certains mycoplasmes de végétaux, découverts depuis peu, sont véhiculés par des Thrips.

L'étude des Thysanoptères nuisibles aux plantes cultivées permettra donc certainement d'apporter une solution à certains problèmes de phytiatrie encore non-résolus.

Reçu pour publication en janvier 1970.

SUMMARY

THE MOST IMPORTANT FORMS OF THYSANOPTERAN INJURIES ON CULTIVATED PLANTS

Thysanoptera or Thrips form an order relatively unstudied. Their depredations on cultivated plants have been often ascribed to other causes. With a view to allow for agronomists to identify them, a rapid inventory have been drawn up.

Thrips mouthparts are constituted of three stylets : the left mandible and two maxillae which bite the superficial cells of plants. During feeding, insect is injecting its saliva which speads in the tissue and destroys them.

Damage can take many aspects : leaves discolouration and withering (*Heliothrips haemorhoidalis* BOUCHE and *Parthenothrips dracaenae* HEEGER on ornamental cultures in glasshouse), leaves deformation (*Liothrips oleae* COSTA on olive tree, *Thrips linarius* UZEL on flax, *Taeniothrips dianthi* HAL. on carnation), limb lacerations (*Drepanothrips reuteri* UZEL on vine) and also veritable galls (*Gynaikothrips ficorum* MARCH) on *Ficus nitida*. The terminal buds destroying is also observed (*Thrips angusticeps* UZEL on flax). Thrips can also attack the floral pieces (*Taeniothrips simplex* MOR. on gladiolus, *Thrips fuscipennis* HAL on rose, *Taeniothrips meridionalis* P. on lilac, *Taeniothrips dianthi* PR. on carnation, *Odontothrips confusus* PR. on alfalfa). This last species sterilizes completely the flower. In some cases, there are also stamens destroying and pollen consumption. On fruits epidermic suberisations are noted (*Drepanothrips reuteri* UZEL on grapes, *Taeniothrips meridionalis* PR. on thin-skinned free-stone peaches, *Taeniothrips inconsequens* UZEL on plums and cherries, *Thrips major* PR. on citrus fruits) but also deformations (*Taeniothrips meridionalis* PR. on peaches). Bulbs attacked are withered (*Taeniothrips simplex* MOR on gladiolus) or decomposed by microorganisms after wounds made by *Liothrips vaneeckei* PR. on lily. Bite in apical meristems produces sometimes toxicoses (*Drepanothrips reuteri* UZEL on vine, *Taeniothrips dianthi* PR. on carnation).

Finally Thrips can be vectors of pathogens. Some species carry fungi (*Dotichiza populea* SACC. et BR. et *Ustilago maydis* DO. TUL ;), bacteria (*Bacillus amylovorus*) or viruses (tomato spotted wilt virus and tobacco ring spot virus).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDREWARTHA H. G., KILPATRICK D. T., 1951. The apple thrips (*Thrips imaginis* BAG.). *J. Dep. Agric. S. Aust.*, **54**, 586-592.

BAILEY S. F., 1935. Thrips as vectors of plant disease. *J. Econ. Entom.*, **28**, 856-863.

BAILEY S. F., 1938. Thrips of economic importance in California. *Univ. of Calif. Berkeley Circular*, **346**, 1-77.

BERNAUX P., BOURNIER A., 1968. *Haplothrips tritici* KURDJ. : agent de la moucheture des blés durs *C. R. XIII*e *Cong. Int. Ent.*, Moscou (sous presse).

BLACHE M., BOURNIER A., 1957. Dégâts de thrips sur Pêchers. *Phytoma*, fév., 7-13.

BONNEMAISON L., BOURNIER A .,1964. Les thrips du lin : *Thrips angusticeps* UZEL et *Thrips linarius* UZEL (Thysanoptères). *Ann. Épiphyties*, **15**, 97-169.

BOURNIER A., 1954. Le Thrips du Glaïeul : *Taeniothrips simplex* MORISON. *Phytoma*, **58**, 9-16.

BOURNIER A., 1957. *Drepanothrips reuteri* UZEL : le thrips de la vigne. *Ann. Éc. nat. agric. Montpellier*, 1-2, 145-157.

BOURNIER A., 1962. Dégâts de thrips sur vignes françaises. *Progr. Agric. Vitic.*, **7**, 164-174.

BOURNIER A., 1963. Un thysanoptère nuisible aux agrumes : *Thrips major* PR. *Rev. Pathol. vég. Ent. Agric.*, **42**, 119-125.

BOURNIER A., 1967. *Les thysanoptères vecteurs de virus de plantes*. Coll. Vect. Virus Antibes.

BOURNIER A., BLACHE M., 1956. Thysanoptères nuisibles au pêcher. *Rev. Zool. Agric. Appl.*, **55**, 1-8.

BOURNIER A., COUILLOUD R., 1968. Les thrips du cotonnier en Iran. *C. R. II*e *Journ. Phyt. Phyto-circummed.* Nice, sept. 1968.

BOURNIER A., KHOCHBAV A., 1965. *Odontothrips confusus* PR. nuisible à la Luzerne. *Ann. Épiphyties*, **16**, 53-69.

BUHL C., 1936. Beiträge zur Kenntnis der Biologie, wirtschaftlichen Bedeutung und Bekämpfung von *Kakothrips robustus* UZ. *Z. Angew. Ent.*, **23**, 65-113.

FRANSSEN C.-J.-H., MANTEL W. P., 1967. Deux galles, nouvelles pour la Hollande, produite par les piqûres d'*Anaphothrips*. *Entom. Bericht.*, **27**, 195-197.

GHABN A., 1948. Contribution to the knowledge of the biology of *Thrips tabaci* in Egypt. *Bull. Soc. Fouad I*er *Ent.*, **32**, 123-174.

GRANCINI P., 1963. Danni da tripidi al maïs. *Maydica*, **8**, 90-94.

KLOFT W., EHRHART P., 1959. Zur frage der speichelinjektion beim Saugakt von *Thrips tabaci*. *Naturwissenschaften*, **46**, 586-587.

LOAN C., HOLDAWAY F. G., 1955. Biology of the red clover thrips, *Haplothrips niger*. *Can. Ent.*, **87**, 210-219.

MARCHAL P., 1908. Sur une nouvelle espèce de thrips nuisible aux ficus en Algérie. *Bull. Soc. Ent.*, Fr. **14**, 251-253.

MELIS A., 1934. Tisanotteri italiani. Studio anatomo morphologico e biologico del Liothripide dell'olive *Liothrips oleae* COSTA. *Redia*, **21**, 1-183.

MESSIEHA M., 1969. Transmission of tobacco Ringspot virus by Thrips. *Phytopathology*, **59**, 943-945.

MILKA-PENO, 1967. Taches brunes des peupliers. *Bull. Com. Nat. Yougoslave du Peuplier*, 149-155.

MORCOS G., 1944. *Gynaikothrips ficorum* MARCHAL in Egypt. *Bull. Soc. Found I*er *Ent.*, **28**, 183-187.

MOULTON D., 1928. The greenhouse thrips (*Heliothrips haemorrhoidalis* BOUCHE). *Mon. Bull. Calif., Dept. Agric.*, **17**, 366-367.

PELIKAN J., 1951. On carnation thrips, *Taeniothrips dianthi* PRIESNER. *Entom. Listy*, **14**, 5-38.

RAZAGHI J., 1965. *Contribution à l'étude des Insectes nuisibles au Trèfle*. Thèse Ing. doct., Fac. Sci., Montpellier.

RISLER H., 1957. Der Kopf von *Thrips physapus* L. *Zool. Jahrb.*, **76**, 2, 251-301.

SAKIMURA, 1954. The present status of thrips borne viruses. *Tech. paper*, **276**.

SCHOPP R., 1936. Observations on life history of Lily Bulb thrips (*Liothrips vaneeckei* PRIESNER). *J. Econ. Ent.*, **29**, 10-11.

TITSCHACK E., 1960. Thysanoptera XXII. *Bombus*, **2**, 20-21, 77-78.

Ann. Zool. Écol. anim., 1970, **2** (2), 261-279.

APPRÉCIATION DES NIVEAUX DE RÉSISTANCE DE LA MOUCHE DE L'OIGNON (*HYLEMYA ANTIQUA* MEIG.) AUX INSECTICIDES ORGANOCHLORÉS

J. HENNEQUIN

avec la collaboration technique de A. Lacroix et Danielle Augé

Laboratoire de Phytopharmacie,
Centre national de Recherches agronomiques, 78 - Versailles
Institut national de la Recherche agronomique

RÉSUMÉ

Après avoir présenté une méthode d'élevage de la Mouche de l'Oignon au laboratoire, l'auteur mesure les niveaux de résistance aux insecticides organochlorés d'un certain nombre de lignées prélevées dans les régions françaises productrices d'oignons. L'intérêt de la méthode topique sur mouches adultes est mise en évidence et elle est comparée à la technique employant les papiers imprégnés d'insecticide. La précision de la méthode par immersion des larves est commentée. Une méthode rapide et pratique d'appréciation de la valeur des insecticides remplaçant les organochlorés est mise au point.

INTRODUCTION

Depuis 1960 environ, les producteurs d'oignons constatent dans certaines zones de production françaises, des échecs répétés lors de traitements du sol à l'aldrine contre la Mouche de l'Oignon. Ces échecs se sont produits plusieurs années de suite et sous des conditions climatiques variées. Dans certaines régions comme celle de l'ouest du département de la Manche, les producteurs ont même été obligés de suspendre temporairement la culture de l'oignon en attendant la mise au point d'insecticides de remplacement.

En présence d'une telle situation, le premier travail à effectuer est de situer les zones suspectées en évaluant au laboratoire le coefficient de résistance des populations de Mouches de l'Oignon. Conjointement il convient de contribuer à la mise au point d'insecticides nouveaux de remplacement assurant aux producteurs une protection convenable de leurs cultures. Enfin il faut envisager de mettre à la disposition d'orga-

nismes de surveillance des méthodes rapides et pratiques d'appréciation de la résistance sur le terrain permettant de détecter toute variation prolongée du niveau de la sensibilité des populations de Mouches de l'Oignon dans la région considérée.

L'appréciation au laboratoire des niveaux de la résistance implique tout d'abord la mise au point d'une méthode d'élevage assurant une production d'insectes abondante, homogène et régulière. Ensuite il convient de choisir une méthode d'essais s'inspirant le plus possible des méthodes recommandées par le Comité des Experts de l'Organisation Mondiale de la Santé (O. M. S.) à propos des vecteurs de maladies humaines (ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ, 1963). Pour les Diptères supérieurs les méthodes préconisées s'appliquent surtout aux insectes adultes et aux larves aquatiques, mais il est très possible d'imaginer des méthodes différentes mesurant le niveau de la résistance des larves phytophages. Ces méthodes semblent d'autant plus intéressantes que dans le domaine agricole il s'agit le plus souvent d'un phénomène de résistance induit au stade larvaire. La présente étude s'efforce de comparer les deux aspects du problème et de conclure quant au choix de la méthode la plus convenable.

L'appréciation pratique du niveau de la résistance par l'emploi de méthodes simples et reproductibles peut s'inspirer également des méthodes préconisées par l'O. M. S. pour les mouches tsé-tsé et les Diptères supérieurs. Dans son principe la méthode consiste à mettre en contact des mouches femelles avec des papiers imprégnés à des concentrations connues de matière active en solution dans une huile minérale. Nous verrons les possibilités et les limites pratiques de cette méthode.

Pour contribuer à la mise au point de matières actives de remplacement nous avons réalisé des essais mettant en évidence l'efficacité immédiate et la rémanence d'insecticides nouveaux appartenant à des groupes chimiques autres que celui des insecticides organochlorés. Dans le cas de la Mouche de l'Oignon une telle méthode a déjà fait l'objet d'une publication (HENNEQUIN et LACROIX, 1966) et se trouve mise actuellement à la disposition des industriels producteurs de matières actives qui désirent apprécier la valeur de produits nouveaux à l'égard d'une souche de mouches résistantes à un niveau élevé aux insecticides organochlorés.

I. — ÉLEVAGE DE LA MOUCHE DE L'OIGNON AU LABORATOIRE

De nombreux auteurs ont contribué à la mise au point de cet élevage et pour mener à bien notre travail nous avons utilisé une synthèse des connaissances acquises (LAFRANCE et PERRON, 1955 ; MISSONNIER et RAHN, 1964 ; NIEMCZYK, 1964 ; MISSONNIER et STENGEL, 1966). Le point essentiel à mettre en évidence est l'importance du volume qu'il convient de donner à cet élevage pour permettre l'obtention en 24 ou 48 heures de lots homogènes de mouches d'un âge connu. Il faut remarquer que dans la nature, l'émergence des insectes adultes à chaque génération s'échelonne sur plus d'un mois alors que nous souhaitons au Laboratoire constituer des isolements en 24 ou 48 heures. De ce fait il est par exemple nécessaire d'introduire 10 000 pupes environ dans l'une de nos cages d'isolement mise à 20° pour obtenir une sortie

de 1 000 mouches en 24 heures. Selon l'importance des travaux envisagés il convient donc d'organiser rigoureusement le système d'élevage de masse de manière à atteindre une production d'environ 50 000 pupes par génération et par souche. Seul ce niveau de production doit permettre de mesurer la résistance au maximum sur la deuxième génération suivant le prélèvement de la souche dans la nature.

L'élevage est conduit dans des cages utilisant comme matériaux le contre-plaqué et le treillage en fibre de verre. Le volume des cages ainsi réalisées est de 70 litres environ ce qui permet la présence de 1 000 à 1 200 mouches sans constater une mortalité excessive par surpeuplement ni risques de maladies. Le local d'élevage est une pièce qui doit être isolée des contaminations chimiques et climatisée à une température voisine de 20° pour une hygrométrie de 60 à 70 p. 100. L'éclairement mixte, fluorescent et incandescent, est fourni 16 heures sur 24 par des batteries de deux tubes fluorescents de 40 watts chacun, type lumière du jour avec l'appoint de deux lampes de 60 watts à incandescence.

Le cycle biologique de la mouche de l'Oignon à partir de l'adulte comprend une période de 18 à 21 jours au cours desquels la mouche constitue ses réserves lipido-glucidiques assurant une bonne maturation des ovaires. Cette période de maturation impose la mise à la disposition de l'insecte d'une nourriture abondante, riche principalement en protéines, lipides et glucides. La fécondité et la longévité les meilleures semblent avoir été obtenues en utilisant une alimentation comprenant du lait entier pasteurisé et sucré à 15 p. 100 présenté dans un tube en U avec une mèche de coton, du miel non pasteurisé étalé sur un support et de la levure de bière en poudre. A l'issue de cette période de maturation et d'accouplement, il est introduit dans la cage d'élevage un plateau de ponte contenant un litre de terre fine et fraîche sur laquelle des rondelles d'oignon sont posées. Dans ce plateau, les mouches femelles viennent déposer leurs œufs. Le plateau est enlevé 3 jours plus tard alors que les premiers œufs pondus sont sur le point d'éclore. Le contenu des plateaux de ponte est ensuite versé dans des terrines en matière plastique garnies d'une abondante nourriture constituée par des oignons frais coupés en deux et recouverts de terre. Le développement des trois stades larvaires s'y poursuit jusqu'à la pupification, une vingtaine de jours plus tard lorsque les terrines sont conservées à 20°C. Une séparation par tamisage puis par flottation permet d'isoler les pupes de la terre et des débris végétaux. Le rendement d'un tel mode de séparation varie de 70 à 80 p. 100 selon l'âge des pupes formées. Les pupes les plus récemment constituées, à l'intérieur desquelles la mue nymphale ne s'est pas encore produite ont tendance à flotter moins facilement que les pupes plus âgées. En élevage normal une terrine doit contenir de 1 000 à 1 200 pupes produites à la suite d'une ponte de trois jours. Les pupes récoltées servent soit à constituer des isolements et obtenir des mouches d'âge connu pour réaliser des essais, soit à faire de nouvelles cages d'élevage pour perpétuer la souche, soit à mettre à + 3° pour différer, selon les besoins, la sortie des adultes.

Il est souvent intéressant de disposer dans une étude sur la résistance d'un insecte aux insecticides, non seulement d'une souche sensible de laboratoire mais également d'une souche à résistance entretenue par une pression insecticide artificielle. Cette pression sélective est exercée dans notre élevage par l'apport dans les terrines de développement larvaire de la souche à résistance entretenue, d'une dose d'aldrine en poudre correspondant à 4 kg d'aldrine pur pour un hectare de terre supposé traité à 5 cm de profondeur. Ce mode de pression insecticide nous a permis de doubler en

12 générations, soit en deux ans, le niveau de résistance de la souche « Manche » dont notre souche résistante de laboratoire est issue. A la 12e génération d'un élevage continu, nous n'avons pas encore constaté de variation brutale de la résistance signalée par certains auteurs sur des élevages d'insectes résistants.

Au cours d'un élevage de laboratoire mené ainsi de manière continue il est à craindre, principalement en fin d'été et en automne, de voir se développer la maladie cryptogamique due à *Entomophtora muscae* (COHN) souvent transmise par la présence de mouches domestiques venues de l'extérieur. Seules des désinfections préventives aux vapeurs de formol permettent d'éviter cette maladie. Par ailleurs, la larve entomophage d'un diptère du genre *Phaonia* est également à craindre en été. Elle vient détruire les larves de la Mouche de l'Oignon à la suite de pontes dans les terrines de développement larvaire. La seule mesure efficace de protection consiste à coiffer les terrines d'un treillage à mailles fines interdisant le dépôt des œufs par les femelles de *Phaonia*.

La méthode d'élevage qui vient d'être décrite a permis l'obtention d'un nombre suffisant et régulier d'insectes pour l'étude du niveau de résistance de six souches naturelles de Mouches de l'Oignon. Toutefois, le fait de fournir des oignons lors de l'alimentation larvaire nécessite des manipulations successives assez longues. D'autre part l'élevage sur végétal peut provoquer une certaine hétérogénéité dans les populations. Au troisième et dernier stade de leur développement les larves sont en effet moins mobiles qu'aux deux stades précédents ce qui peut entraver la recherche de nourriture à l'intérieur de la terrine et déterminer une pupification prématurée. Le milieu artificiel évite au contraire cette variabilité dans l'alimentation et quelques auteurs ont récemment mis au point des méthodes d'élevage sur ces milieux. Nous en avons expérimenté quelques-uns dont celui de PASCAL, KUHL et MISSONNIER (1967) puis celui de TICHELER (1968). Ce dernier milieu, dont la composition définitive n'est pas encore publiée par son auteur, est maintenant employé dans les conditions d'élevage de masse décrites par AUDEMARD (1968) pour la Mouche des semis.

II. — PRÉSENTATION DES MÉTHODES PERMETTANT DE DÉTERMINER LE NIVEAU DE SENSIBILITÉ DES POPULATIONS DE MOUCHES DE L'OIGNON

Nous avons retenu parmi les méthodes recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé pour les adultes de Diptères supérieurs, la méthode d'application topique qui permet l'établissement précis en laboratoire des spectres de résistance et la méthode des papiers imprégnés pour la vérification rapide sur le terrain des niveaux de sensibilité. A propos des larves de Diptères supérieurs aucune méthode n'est préconisée par l'O. M. S. en dehors de celle pour larves aquatiques de moustiques; quelques auteurs ont publié des résultats avec des méthodes que nous avons expérimentées. La méthode par immersion retenue dans ce travail est celle qui nous a semblé donner les résultats les plus cohérents et être la plus reproductible sous certaines conditions.

A. — *Présentation de la méthode topique*

Cette méthode est retenue comme étant la plus précise en dépit de variations dues à la nature du solvant employé. Déjà longuement décrite par nombre d'auteurs, elle consiste en l'application de l'insecticide dans son solvant sous forme d'une goutte d'un volume déterminé sur le prothorax de l'insecte à étudier. Le solvant employé dans nos expériences est l'acétone et le volume délivré par mouche de 1 mm^3. L'anesthésique retenu pour pratiquer l'application est le gaz carbonique fourni en débit continu sur chaque lot de mouches à traiter. Seules les mouches femelles sont utilisées, leur résistance étant considérée comme plus élevée que celle des mâles. Avant tout essai, le poids moyen d'une mouche est établi sur 50 femelles préalablement anesthésiées. Les mouches sont traitées avec la matière active à expérimenter entre le 5e et le 8e jour qui suit la fin de constitution de l'isolement. Les isolements sont toujours alimentés avec du lait sucré, à l'exclusion de miel ou de levure, réservés aux élevages de multiplication. Les essais doivent être réalisés sur la deuxième génération qui suit le prélèvement dans la nature. Cette remultiplication préalable permet en effet une homogénéisation des populations qui peut être liée au régime alimentaire unique administré durant deux générations.

Un essai comprend le témoin traité à l'acétone et une série en progression géométrique de trois à quatre concentrations de la matière active en solution acétonique. Chaque concentration est répétée cinq fois sur dix mouches par répétition. Les dix mouches de chaque répétition sont mises en boîte de Pétri dont le fond est tapissé de papier filtre. Les mouches sont ensuite maintenues 24 h en étuve obscure à 22° et 60-65 p. 100 d'humidité relative. Les résultats sont contrôlés à l'issue de cette période en considérant comme insectes morts ou mourants tout individu incapable de se maintenir sur le papier filtre de la boîte de Pétri inclinée à 70°.

L'appareillage permettant de délivrer la goutte de manière précise peut être soit une seringue micrométrique manuelle du type Agla (TREVAN, 1925) soit une seringue automatisée du type ARNOLD (1965).

B. — *Présentation de la méthode sur papiers imprégnés d'insecticides*

Cette méthode, essentiellement pratique, met à la disposition de l'utilisateur un nécessaire d'épreuves commercialisé par l'O. M. S. et qui est décrit dans le Rapport n° 265 de cet organisme. Ce nécessaire comprend un jeu de 20 tubes en matière plastique qui sont mis bout à bout et séparés par une trappe. L'un des tubes, le tube d'exposition, est tapissé d'un papier imprégné d'insecticide dans une huile minérale. L'autre, le tube d'observation, est tapissé d'un papier blanc non imprégné. La technique consiste à mettre en contact dix mouches par répétition pendant un temps déterminé avec une série de papiers imprégnés à des concentrations progressivement croissantes d'insecticide. Après cette période de fréquentation, les mouches sont transférées en ouvrant la trappe, dans le tube d'observation où elles trouvent une alimentation en lait sucré. Après 24 h de séjour dans ce tube, les mouches mortes et vivantes sont dénombrées.

Les résultats présentés dans la première partie de nos expériences correspondent à l'emploi du nécessaire d'épreuves précédemment décrit. Ils concernent uniquement les mouches de la souche sensible de laboratoire fréquentant durant 3 h les papiers

imprégnés. Les mouches des souches prélevées dans les régions productrices se sont révélées en effet d'une résistance telle que les concentrations d'imprégnation à la dieldrine des papiers commerciaux demeurent insuffisantes pour provoquer une mortalité convenable. L'exposition durant 3 heures des mouches de la souche « Auxonne » 1965 sur des papiers imprégnés avec une solution à 4 p. 100 de dieldrine provoque une mortalité de 32 p. 100. Les mortalités dans les mêmes conditions pour les souches de Roscoff, Montpellier et Cergy sont respectivement de 43, 26 et 33 p. 100. La solubilité de la dieldrine dans l'huile minérale employée n'est pas suffisamment élevée pour permettre d'obtenir des concentrations d'imprégnation supérieures à 4 p. 100. Par ailleurs, la prolongation jusqu'à 24 h du temps de fréquentation ne permet pas de trouver pour la souche sensible de laboratoire des concentrations commerciales d'imprégnation suffisamment basses pour provoquer une mortalité correcte, également en 24 h de fréquentation. BROWN signale à propos des temps d'exposition choisis trop longs, des rapports de résistance exagérés. La seule modification apportée dans les manipulations à la méthode de l'O. M. S. concerne le maintien des tubes d'exposition horizontalement et non verticalement durant la période de fréquentation. Les Mouches de l'Oignon sont ainsi moins attirées par la lumière et fréquentent plus assidûment les parois tapissées de papiers imprégnés. Lors de la période d'alimentation et d'observation le dispositif est remis verticalement.

Les résultats présentés dans la deuxième partie de nos expériences concernent la fréquentation de papier filtre imprégnés par nos soins avec de l'aldrine en employant l'éther comme solvant. Après séchage ces papiers sont ensuite disposés dans le fond de boîtes de Pétri. Les mouches sont mises en contact durant 24 h et les mortalités immédiatement calculées après l'exposition. Les résultats obtenus concernent la souche sensible de laboratoire et la souche à résistance artificielle.

Comme il sera vu au chapitre III A, à propos de l'application topique, le croisement des souches sensibles et résistantes est ensuite réalisé. Ce croisement permet d'appliquer sur la F_2 les doses discriminantes, basse et haute, différenciant les souches parentales et subdivisant la population aux niveaux 25 et 75 p. 100. L'application de la dose discriminante haute sur le back-cross des femelles F_1 avec les parents mâles subdivise, par contre, la population au niveau caractéristique de 50 p. 100. Ces croisements démontrent la transmission monofactorielle du caractère « résistance » chez la Mouche de l'Oignon.

C. — *Présentation de la méthode permettant de déterminer la résistance des larves de la Mouche de l'Oignon*

Les méthodes présentées par READ (1965) et par STEWARD et MCKINLAY (1965) respectivement sur larves de Mouches du Chou et du Navet ne nous ont pas donné de résultats jugés suffisamment précis sur les larves de la Mouche de l'oignon. Dans la méthode de READ, le critère de mortalité de la larve est assez difficile à définir dans un milieu alimentaire en décomposition. Dans la méthode de STEWARD, l'immersion d'un fragment du végétal dans une solution aqueuse d'insecticide ne nous a pas donné de résultats cohérents quant à la mortalité larvaire. Ces deux méthodes ne nous semblent ni précises ni reproductibles. La méthode par immersion de la larve présentée par HAYASHI et ITOGA (1966) sur la mouche domestique nous a paru la plus transposable sous certaines conditions. Il convient en effet, pour obtenir de

bons résultats, de prendre la précaution d'établir un critère de mortalité particulier en se référant au calibre des pupes témoins obtenues dans chaque essai. Il ne faut considérer comme vivantes dans les lots traités que les larves ayant constitué un puparium atteignant au moins le calibre de celui des pupes témoins. Il est en effet certain qu'une larve, même atteinte par l'insecticide, est capable de constituer prématurément sa pupe avant même la fin de son développement larvaire complet. Sous cette réserve, la méthode peut se décrire de la manière suivante : nous constituons 5 répétitions de 20 larves de Mouche de l'Oignon prises au début du 3e stade larvaire et sensiblement de même âge. Pour chaque concentration de la gamme insecticide choisie ces cinq lots de larves sont enfermés dans une petite nacelle de treillage et immergés durant 2 heures dans une émulsion aqueuse d'insecticide. Cette émulsion est agitée continuellement avec un agitateur magnétique. A l'issue de cette période de trempage, les lots de larves sont égouttés et transférés sur un oignon d'alimentation enfoui dans de la terre fraîche. Après 20 jours à 20° les pupes formées sont dénombrées par tamisage en respectant le critère de mortalité précédemment défini.

III. — PRÉSENTATION DES RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

A. — *Résultats obtenus par l'emploi de la méthode topique*

L'établissement des coefficients de résistance par cette méthode est réalisé avec les matières actives aldrine et lindane sous leur forme pure cristallisée. La dieldrine est employée uniquement sur les souches de laboratoire pour mettre en évidence une résistance croisée avec l'aldrine. Les droites de régression présentées sur la figure 1

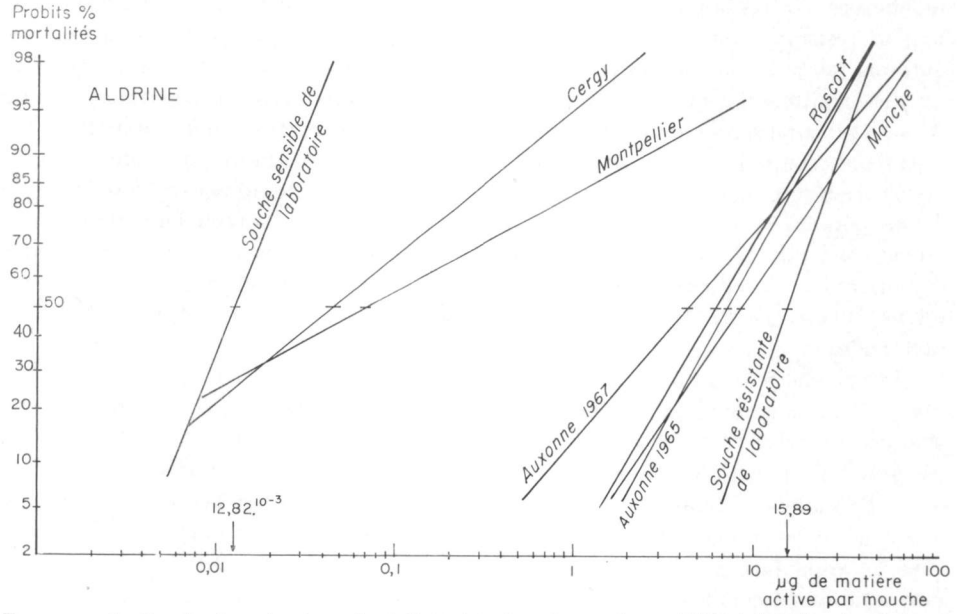


FIG. 1. — *Droites de régression permettant d'apprécier les niveaux de sensibilité à l'aldrine de souches de Mouches de l'Oignon prélevées dans différentes régions productrices françaises.* Résultats sur mouches adultes femelles en application topique de la matière active dans l'acétone.

et dans le tableau 1, correspondent à l'équation d'une droite de régression résultante obtenue à partir de trois essais. Les coefficients de résistance représentent le quotient de la DL 50 de la souche à expérimenter sur la DL 50 de la souche sensible de laboratoire.

Des coefficients de résistance particulièrement élevés apparaissent dans trois zones de production : dans l'ouest du département de la Manche (Créances et Surtainville), en Bretagne (Roscoff) et en Côte d'Or (Auxonne). Les niveaux de résistance compris entre × 300 et × 650 correspondent à des échecs permanents de traitements à l'aldrine dans la pratique. Les producteurs de ces régions doivent, soit abandonner la culture de l'oignon soit employer de nouveaux insecticides appartenant généralement au groupe des insecticides organophosphorés. A l'égard du lindane, comme il a été souvent constaté, la résistance de la Mouche de l'Oignon ne suit pas le développement de la résistance à l'aldrine. Toutefois, lors de traitements de sols à l'aide de granulés, ce fait ne doit pas inciter le producteur à remplacer l'aldrine par le lindane pour lutter contre la Mouche de l'Oignon. En ce qui concerne l'aldrine, la pente des droites de régression est relativement forte et très voisine pour les trois souches. Ces droites permettent de supposer qu'une sous-population importante de mouches résistantes existe dans ces régions. En l'absence de traitements à l'aldrine le phénomène est réversible par simple dilution des sous-populations résistantes dans les populations demeurées sensibles. Ce phénomène de dilution est toutefois d'autant moins rapide que les cultures sont plus localisées et isolées. La chute après quelques années du coefficient de résistance n'autorise pas le réemploi de l'aldrine à l'issue de cette période car le niveau antérieurement élevé de la résistance serait à nouveau très rapidement atteint (KEIDING, 1967).

Les zones de production de Montpellier et de la région parisienne (Cergy) sont fréquentées par des populations de mouches beaucoup plus hétérogènes dont le coefficient de résistance est compris entre × 35 et × 50 environ. La pente des droites est toutefois faible et indique l'existence d'une petite sous-population à résistance élevée. Les traitements pratiques réalisés dans ces régions peuvent apparaître encore efficaces puisque seule est résistante une assez faible proportion de la population. En continuant à employer l'aldrine le phénomène de résistance amorcé ne peut toutefois que s'accentuer, surtout dans la région de Montpellier où le niveau de résistance de la sous-population est voisin de celui de la souche « Manche » pour laquelle les traitements à l'aldrine sont devenus inefficaces. Même sans échecs spectaculaires des traitements, les producteurs de ces régions doivent se méfier et employer dès maintenant un insecticide de remplacement appartenant à un autre groupe chimique insecticide.

La souche à résistance artificiellement entretenue à l'aldrine permet de constater que la résistance au lindane ne suit pas la résistance à l'aldrine. En doublant presque le coefficient de résistance de la souche « Manche » pour obtenir la souche à résistance artificielle, le coefficient de résistance au lindane n'a pratiquement pas varié. Par ailleurs, pour l'aldrine, une vérification opérée sur la 14^{e} génération de la souche à résistance artificielle ne montre pas de variation appréciable du coefficient de résistance par rapport à celui trouvé sur les 9^{e} et 10^{e} générations utilisées pour établir le coefficient de la souche (× 1 239). La pression insecticide continuant à s'exercer, une récente mesure de la DL 50 sur la 16^{e} génération de cette souche a montré que brusquement la DL 50 doublait pratiquement, passant de

TABLEAU I

Établissement des coefficients de résistance des adultes de Mouches de l'Oignon femelles prélevées dans différentes régions

Origine de la souche	Matières actives appliquées	Équations de la droite de régression	DL 50 en µg par mouche	Coefficients de résistance des souches
Souche sensible de Laboratoire	Aldrine	$0{,}5861 + 3{,}9846\ X$	$12{,}820 \cdot 10^{-3}$	—
	Dieldrine	$0{,}4325 + 4{,}5817\ X$	$9{,}929 \cdot 10^{-3}$	—
	Lindane	$0{,}6643 + 3{,}6358\ X$	$15{,}600 \cdot 10^{-3}$	—
Manche	Aldrine	$3{,}0186 + 2{,}1470\ X$	8,373	X 653
	Lindane	$-1{,}1050 + 4{,}5500\ X$	0,220	X 14
Auxonne 1965	Aldrine	$2{,}5485 + 2{,}8340\ X$	7,329	X 572
	Lindane	$2{,}7130 + 2{,}5563\ X$	0,078	X 5
Auxonne 1967	Aldrine	$3{,}9568 + 1{,}6400\ X$	4,326	X 337
	Lindane	$1{,}6773 + 2{,}2212\ X$	0,313	X 20
Roscoff	Aldrine	$2{,}9781 + 2{,}5330\ X$	6,284	X 490
	Lindane	$2{,}6967 + 2{,}5333\ X$	0,081	X 5
Montpellier	Aldrine	$4{,}2446 + 0{,}9466\ X$	0,628	X 49
	Lindane	$2{,}7466 + 2{,}3005\ X$	0,095	X 6
Cergy	Aldrine	$4{,}2008 + 1{,}2227\ X$	0,450	X 35
	Lindane	$1{,}3685 + 3{,}6632\ X$	0,098	X 6
Souche résistante de Laboratoire	Aldrine	$-0{,}5045 + 4{,}5822\ X$	15,890	X 1 239
	Dieldrine	$1{,}4358 + 4{,}7043\ X$	5,723	X 576
	Lindane	$-4{,}8020 + 6{,}9333\ X$	0,259	X 17

11,400 microgrammes d'aldrine pur par mouche à 24,650 microgrammes. Parallèlement la résistance au lindane demeurait stationnaire au niveau de 0,320 microgramme par mouche. De nombreux auteurs dont BROWN (1959) reconnaissent que les phénomènes d'implantation de la résistance se réalisent souvent par brusques paliers successifs au fur et à mesure que se perpétue la pression insecticide. La souche sensible de référence apparaît de constitution très homogène à un niveau de DL 50 (12, 820 · 10^{-3} microgrammes par mouche) qui ne doit plus exister que très rarement parmi les populations naturelles. Cette souche a été multipliée depuis de nombreuses années à l'abri des contaminations insecticides.

Nous avons complété cette étude des niveaux de résistance des populations naturelles par une expérience sur le mode de transmission génétique de la résistance à l'aldrine chez la Mouche de l'Oignon. En nous inspirant des travaux de TOWGOOD et BROWN (1962) nous avons réalisé le croisement de masse des femelles de la souche sensible (DL 50 à l'aldrine, 12,820 · 10^{-3} microgrammes par mouche) avec les mâles de la 14^{e} génération de la souche résistante artificielle (DL 50 à l'aldrine, 11,4 microgrammes par mouche) (fig. 2). Les résultats obtenus en utilisant la F_1 de ce croisement, puis la F_2 et le back-cross figurent au tableau 2 ci-dessous :

TABLEAU 2

Pourcentages de mortalité aux doses discriminatoires pour les F_1, les F_2 et le back-cross d'un croisement de masse entre femelles sensibles et mâles résistants. Application topique d'aldrine en solution acétonique.

	Pourcentages de mortalité pour la dose discriminante 0,040 µg sensibles/hybrides	Nombre de femelles employées	Pourcentages de mortalité pour la dose discriminante 0,500 µg hybrides/résistantes	Nombre de femelles employées
F_1	2	150	100	150
F_2	26	100	70	100
B. C.	—	—	44	400

La DL 50 de la F_1 se situe au niveau 0,142 microgramme par mouche et les doses discriminantes 0 et 100 p. 100 de mortalité sont respectivement aux niveaux 0,040 microgramme et 0,500 microgramme par mouche. Cette résistance des hétérozygotes est intermédiaire entre celles des deux souches parentales mais bien plus proche de la souche sensible. Sur la F_2, ces mêmes doses discriminantes séparent de manière assez satisfaisante les trois génotypes. Pour les rapports mendéliens théoriques de 25 à 75 p. 100 de mortalité nous obtenons les pourcentages de 26 et 70 p. 100 aux doses discriminantes. En effectuant le back-cross des femelles F_1 avec des mâles résistants et en appliquant la dose discriminante haute de 0,500 microgramme par mouche, nous mettons en évidence un pourcentage de 44 p. 100 de mortalité, assez voisin du pourcentage théorique mendélien de 50 p. 100 compte tenu du fait que les croisements sont réalisés en masse et non à partir d'un couple. Il est donc permis de penser avec les auteurs précédemment cités que la transmission de la résistance à l'aldrine chez la Mouche de l'Oignon est bien monofactorielle, le gène de la résistance se situe sur un seul chromosome.

B. — *Résultats obtenus par la méthode de fréquentation de papiers imprégnés d'insecticides*

Les résultats présentés à l'aide de cette méthode qui utilise le nécessaire d'épreuves commercialisé par l'O. M. S. ne concernent que la souche sensible de laboratoire exposée sur des papiers imprégnés avec de la dieldrine. Elle serait certainement utilisable pour détecter l'établissement d'une résistance naissante dans une population, mais beaucoup moins pour mesurer correctement les hauts niveaux d'une résistance déjà installée. Comme nous l'avons vu dans la présentation de la méthode, les limites de solubilité de la dieldrine dans son solvant huileux lors de l'imprégnation des papiers

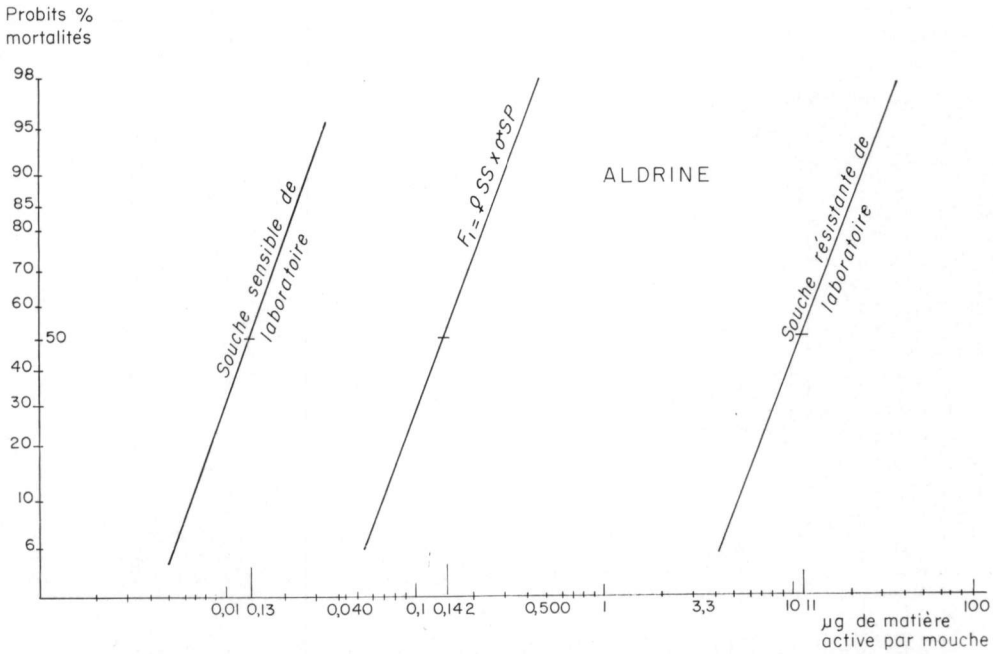


FIG. 2. — *Droites de régression permettant d'apprécier la sensibilité à l'aldrine de souches de Mouches de l'Oignon sensibles et résistantes ainsi que de leur croisement* F_1. Résultats sur mouches adultes femelles en application topique de la matière active dans l'acétone.

font que la surveillance des niveaux de sensibilité des populations de mouches doit s'effectuer avant même que la résistance ne se traduise par des échecs dans la pratique. Disposant ainsi d'une droite de référence, les contrôles périodiques seront à réaliser à l'aide d'une concentration double de celle qui fut nécessaire pour tuer 100 p. 100 de l'échantillon de la population d'origine. La simple apparition de survivants lors de l'utilisation de cette concentration laisse supposer un début d'implantation de résistance.

Pour cette souche sensible de laboratoire sur papiers imprégnés commercialement de dieldrine, la droite de régression résultante est présentée à la figure 3 et son équation calculée est la suivante : $y = 3{,}0300 + 4{,}1500x$. La DL 50 correspond environ à des papiers imprégnés à l'aide d'une solution à 0,35 p. 100 de dieldrine

dans l'huile minérale. L'inconvénient de la méthode réside essentiellement dans la fixité des teneurs commerciales d'imprégnation. L'avantage, par contre, est de disposer de papiers sur lesquels la matière active recristallise de manière très régulière grâce à l'emploi de l'huile minérale comme solvant.

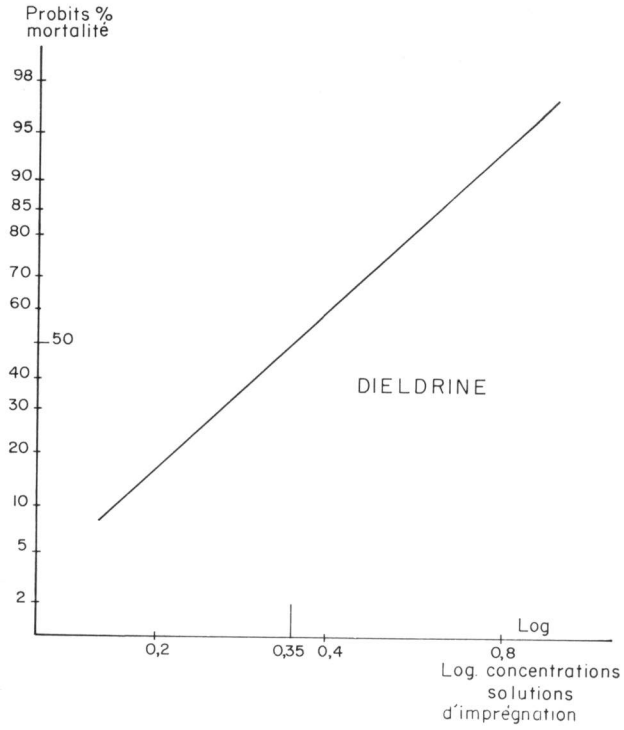


FIG. 3. — *Droite de régression permettant d'apprécier le niveau de sensibilité à la dieldrine d'une souche de laboratoire de Mouches de l'Oignon mises en contact durant trois heures avec les papiers imprégnés commercialisés par l'O. M. S. La DL 50 correspond à des papiers imprégnés avec une solution à 0,35 p. 100 de dieldrine dans une huile minérale.*

Les résultats présentés avec la méthode d'imprégnation au laboratoire sont obtenus en utilisant l'aldrine solubilisée dans l'éther éthylique. Ils concernent à la fois la souche sensible de laboratoire et la souche résistante artificielle. Sont également expérimentés par la suite le croisement en F_2 de ces deux souches et le backcross des femelles F_1 avec les mâles résistants. Les DL 50 respectives des souches parentales sont de 0,345 microgrammes par mouche sensible et de 536 microgrammes par mouche résistante. La dose discriminante basse séparant les sensibles des hétérozygotes se situe à 0,850 microgramme par mouche. La dose discriminante haute séparant les hétérozygotes des résistantes se situe à 200 microgrammes par mouche. La ségrégation des populations se présente de la manière suivante dans le tableau 3.

C. — *Résultats mettant en évidence le niveau de la résistance larvaire*

La méthode par trempage décrite au chapitre II C nous a permis d'établir les droites de régression, de calculer les DL 50 et les coefficients de résistance figurant

au tableau 4. Il apparaît d'emblée que la mesure d'une résistance larvaire, même par cette méthode supposée la meilleure, ne peut donner entière satisfaction. Avec l'aldrine il est pratiquement impossible de différencier les niveaux de résistance larvaire pour l'ensemble des souches naturelles dont les coefficients de résistance sur

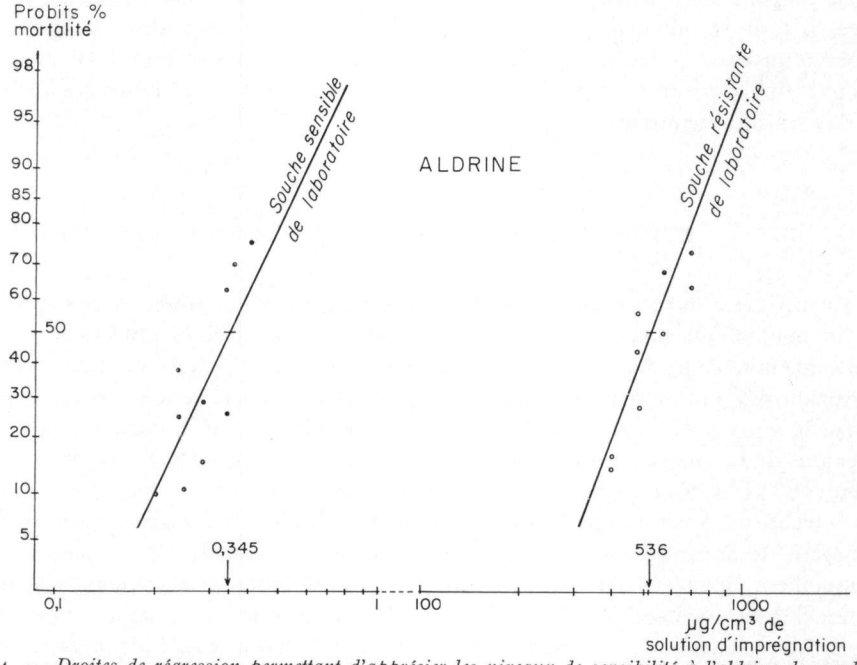


FIG. 4. — *Droites de régression permettant d'apprécier les niveaux de sensibilité à l'aldrine de souches de laboratoires sensibles et résistantes de Mouche de l'Oignon.* Contact continu de vingt quatre heures sur papiers imprégnés à l'aldrine dans un centimètre cube d'éther éthylique.

TABLEAU 3

Pourcentages de mortalité aux doses discriminantes pour les F_2 et le back-cross d'un croisement entre femelles sensibles et mâles résistants de Mouches de l'Oignon. Fréquentation de papiers imprégnés à l'aldrine en solution dans l'éther

	Pourcentages de mortalité pour la dose discriminante 0,850 µg sensibles/hybrides	Nombre de femelles employées	Pourcentages de mortalité pour la dose discriminante 200 µg hybrides/résistantes	Nombre de femelles employées
F_2	26	250	78	250
B. C.	—	—	52	250

adultes en topiques sont pourtant très nettement différenciés et varient de × 35 pour la souche « Cergy » à × 572 pour la souche « Auxonne ». Seule la souche résistante artificielle est réellement mise en évidence par cette méthode de trempage avec un coefficient de résistance larvaire de × 85 alors que le coefficient de résistance par application topique sur adultes est de × 1 239. Avec le lindane aucune résistance larvaire notable n'apparaît. Par contre, la méthode présentée par GOSTICK (1968)

pourrait être intéressante car cet auteur utilise comme solvant de l'insecticide dans la solution de trempage un mélange à 70 p. 100 d'acétone et 30 p. 100 d'eau. La présence de l'acétone pourrait permettre une meilleure pénétration de la matière active dans la larve.

En dépit des résultats peu cohérents obtenus par la méthode de trempage des larves, il faut reconnaître que l'adoption d'un critère de mortalité qui impose la référence au calibre des pupes témoins laisse supposer une interprétation possible de la part de l'expérimentateur. Toutes ces conditions ne sont pas favorables à l'obtention de résultats rigoureux.

IV. — ÉTUDE DES INSECTICIDES DE REMPLACEMENT

En présence d'un développement de la résistance à des niveaux tels que ceux qui viennent d'être mis en évidence, une étude des insecticides nouveaux faite en collaboration avec les fabricants est essentielle. Elle tente de mettre rapidement à la disposition des producteurs des insecticides efficaces, expérimentés avec des populations de mouches à résistance élevée (× 1 239 à l'aldrine). Il importe en effet, dans les régions de production où l'on détecte une résistance naissante, d'introduire immédiatement l'utilisation d'une matière active appartenant à un groupe chimique différent de celui vis-à-vis duquel la résistance s'est déclarée. La rémanence demandée à un insecticide granulé dans le sol pour lutter contre la Mouche de l'Oignon se situe pratiquement entre 3 et 4 mois. Ce délai est aisément obtenu avec les matières actives organochlorées mais semble plus difficile à obtenir avec les insecticides organophosphorés. Le problème n'est actuellement qu'en partie résolu mais tout laisse à penser que le mode de granulation et le support des matières actives jouent un rôle essentiel pour assurer une rémanence convenable des présentations commerciales à incorporer au sol.

A. — *Méthode*

La méthode d'appréciation de l'efficacité immédiate et de la rémanence des matières actives destinées à lutter contre les Mouches de l'Oignon résistantes, est employée au Laboratoire depuis 1964. Elle a fait l'objet d'une publication citée par ailleurs (HENNEQUIN et LACROIX, 1966). Les niveaux d'efficacité présentés sont à considérer comme des ordres de grandeur ; en pratique les pertes de rémanence dans les sols sont dues à de multiples facteurs tels que la teneur en eau, la volatilisation de la matière active, sa dégradation chimique ou la décomposition bactérienne. Ces trois derniers facteurs étant d'ailleurs étoitement liés à la température. De tels essais doivent précéder l'expérimentation en plein champ. Le champ d'essais confirme ou infirme les résultats obtenus en serre tout en mettant en évidence d'autres propriétés de l'insecticide, telles que la phytotoxicité, la facilité d'épandage, le prix de revient etc.

B. — *Résultats et discussions*

Les résultats figurent pour chaque année d'expérimentation dans le tableau 5. Parmi les matières actives expérimentées, le diazinon sous sa forme granulée fut l'un des premiers à apporter une solution partielle au problème posé. Il est très probable que sa rémanence, se situant entre 2 et 3 mois, suffit pour assurer dans la plupart des cas une bonne levée des semis ou la reprise des repiquages. Toutefois il est vraisemblable que, dans des conditions difficiles, au cours d'infestations prolongées, le diazi-

TABLEAU 4

Établissement des DL 50 et des coefficients de résistance de larves jeunes du 3e stade de Mouches de l'Oignon immergées 2 heures en solution aqueuse de la matière active

Origine de la souche	Matières actives appliquées	Équations de la droite de régression	DL 50 en µg par cm³ de solution de trempage	Coefficients de résistance des souches
Souche sensible de Laboratoire	Aldrine	4,1171 + 2,2733 X	2,417	—
	Lindane	2,8924 + 3,5540 X	3,918	—
Auxonne 1965	Aldrine	— 5,9260 + 5,3502 X	110,2	X 45,6
	Lindane	1,4255 + 2,8866 X	17,310	X 4,4
Roscoff	Aldrine	— 3,6763 + 4,3209 X	100	X 41,4
	Lindane	1,5658 + 2,9733 X	14,290	X 3,6
Montpellier	Aldrine	0,2201 + 2,4166 X	95,05	X 39,3
	Lindane	2,9381 + 1,7066 X	16,150	X 4,1
Cergy	Aldrine	0,4768 + 2,3166 X	89,640	X 37
	Lindane	2,4270 + 2,5100 X	10,590	X 2,7
Souche résistante de Laboratoire	Aldrine	— 7,4037 + 5,4194 X	194,4	X 80,4
	Lindane	— 16,0269 + 12,9844 X	41,630	X 10,6

non ne peut protéger complètement une culture. Un pourcentage d'oignons non commercialisables apparaît alors à la récolte. Dans toutes les conditions climatiques moyennes le diazinon demeure néanmoins une matière active intéressante. A la

TABLEAU 5

Efficacité et rémanence des matières actives sur une souche de Mouches de l'Oignon résistantes aux insecticides organochlorés (x 1239 à l'aldrine).

Matières actives expérimentées	Doses d'emploi des matières actives en kg/ha	Traitement d'une serre au jour J et maintenue sous les conditions climatiques extérieures. Pourcentages d'efficacité Abbott à la suite d'infestations successives en serre à :				
		J + 1/2 mois	J + 1 mois	J + 2 mois	J + 3 mois	J + 4 mois
En 1965						
Aldrine	4	23	< T	< T	< T	< T
Trichloronate	2,5	100	100	100	80	91
Bromophos	4,5	74	74	26	5	7
Diméthoate	7,5	88	80	= T	20	36
		J + 1/2	J + 1 1/2	J + 2 1/2	J + 3 1/2	J + 5 1/2	J + 6 1/2
En 1966							
Aldrine	4	< T	18	< T	< T	< T	< T
Trichloronate	2,5	100	100	100	85	83	15
Chlorfenvinphos	6	100	100	100	100	54	= T
Diéthion	5	50	91	90	81	74	5
Diazinon	8	100	95	95	31	8	< T
Carbophénothion	6	100	100	95	89	< T	< T
En 1967							
Aldrine	4	< T	< T	< T	< T	< T	< T
Trichloronate	2,5	100	100	100	91	84	76
Dichlofenthion	6	100	100	93	93	68	69
En 1968							
Aldrine	4	18	< T	< T	< T		
Trichloronate	2,5	96	96	100	76		
Méthomyl	8	100	91	57	5		

même époque la matière active diéthion semblait prometteuse sous la forme de poudre à enrobage de semences. En granulés, malheureusement, cet insecticide présente un certain retard dans la libération de la matière active. Ce retard peut être néfaste pour la protection des cultures soit en cas d'attaques très précoces de la mouche soit lorsque l'on désire protéger des plantations de bulbilles d'Oignons de Mulhouse ou des semis d'oignons blancs. Dans les deux cas, repiquage ou semis se réalisent alors que les vols de mouches se succèdent en cours de saison. A ce moment, l'attaque du jeune bulbe peut avoir lieu dans les quelques jours qui suivent la mise en terre.

Parmi les matières actives considérées comme possédant une bonne efficacité dans notre expérimentation, il convient de retenir : le trichloronate granulé à 2,5 p. 100 et à la dose de 2,5 kg de matière active à l'hectare ; le chlorfenvinphos granulé à 10 p. 100 et à 6 kg de matière active à l'hectare ; le dichlofenthion granulé à 5 p. 100 et à 6 kg de matière active à l'hectare. Seules ces trois matières actives peuvent assurer actuellement une certaine protection des cultures par leur efficacité immédiate et leur rémanence. Toutefois ces essais ne peuvent permettre d'apprécier le comportement des matières actives dans le sol ou à l'égard des plantes, ni les fluctuations d'efficacité selon la nature des sols. Seuls des essais parcellaires diversifiés sont à même de répondre à ces questions.

Les autres matières actives expérimentales présentent moins d'intérêt pour lutter contre la Mouche de l'Oignon résistante. Le bromophos et le diméthoate ont une assez bonne action immédiate mais une rémanence très moyenne. Ils peuvent donner de bons résultats sous des conditions climatiques particulières. Le carbophénothion, par contre, est une matière active intéressante bien qu'elle ait été expérimentée seulement sous sa forme poudre. En 1968, le méthomyl, granulé 5 p. 100 employé à 8 kg de matière active à l'hectare laisse supposer une rémanence peut-être suffisante pour assurer une bonne protection.

CONCLUSION

L'étude qui vient d'être présentée situe de manière assez précise les niveaux de résistance déjà atteints en France par certaines populations de Mouches de l'Oignon dans les régions de production. Ce niveau est généralement élevé et pose un sérieux problème pratique. Depuis quelques années, ce problème est en partie résolu par l'abandon pur et simple des matières actives chlorées au profit des matières actives phosphorées. Les risques d'implantation d'une résistance sont évidemment bien moindres mais non négligeables comme le montre KEIDING (1967) à propos des populations de mouches domestiques étudiées dans les fermes danoises. Sans atteindre un niveau encore très élevé, la résistance de ces mouches au diazinon par exemple est déjà dix à vingt fois supérieure à celle des populations de 1955 et même en l'absence de traitements ce niveau se stabilise à quinze fois, ce qui correspond à la sensibilité de la sous-population hybride. Une stabilisation semblable a été observée dans la résistance au malathion. Il faut remarquer également que le diazinon et d'autres composés phosphorés, sauf le malathion, peuvent être d'excellents sélecteurs de résistance au DDT (MARCH, 1959). Tout retour à l'emploi d'insecticides organochlorés est par ailleurs exclu car il persiste dans les populations une fréquence élevée du gène « résistance » chez les phénotypes hétérozygotes. Lorsque l'on applique à nouveau un insecticide chloré l'effet est bref et la population reprend très rapidement son évolution au profit de la sous-population résistante.

Pratiquement, l'emploi des insecticides nouveaux du groupe des organophorés ne résout qu'imparfaitement le problème. L'action de tels insecticides présentés sous la forme granulée est d'une régularité moins satisfaisante que ne l'était l'action des granulés à base d'aldrine. Ces nouveaux insecticides phosphorés sont beaucoup plus sensibles dans leur comportement à la nature physique et chimique des sols. Le mode

et le support de granulation sont également des facteurs importants desquels dépend la vitesse de libération de la matière active. Il semble souhaitable, pour ces granulés à base de matières actives phosphorées, d'étudier très précisément l'efficacité selon la nature des sols. Il serait peut-être alors possible de préconiser l'emploi d'une dose minimale et d'une dose maximale en fonction du sol à traiter, compte tenu des prix de revient et des phénomènes possibles de phytotoxicité. Dès maintenant il est préférable de conseiller des traitements localisés, sur la bande de semis ou par enrobage, qui limitent ainsi l'apport des insecticides dans le sol et assurent une meilleure chance de survie aux parasites et prédateurs. Il convient également d'éviter les apports dans les sols maraîchers d'engrais additionnés d'insecticides du groupe des cyclodiènes (aldrine, dieldrine, heptachlore etc..). Généralement ces engrais-insecticides visent à détruire les vers blancs et taupins mais ils sont incorporés dans les sols trop tôt en saison et enfouis trop profondément pour assurer une protection efficace des cultures légumières contre les mouches phytophages au moment des semis. Ils contribuent, par contre, à éliminer systématiquement la faune auxiliaire dans les sols.

De par sa répartition géographique très localisée en zones de production souvent fermées, la culture maraîchère est un domaine de choix pour l'implantation d'une résistance. Les phénomènes de dilution des lignées résistantes sont plus limités que dans les cultures à large répartition géographique. Les sondages pratiqués en cultures maraîchères, pour mesurer les niveaux de résistance des populations de mouches, ne doivent d'ailleurs être représentatifs qu'à l'échelon très local. La dilution des populations est fonction de la capacité de déplacement de l'insecte et des implantations-relais de cultures entre les zones principales de production.

Les problèmes posés risquent de prendre une telle ampleur qu'il faut souhaiter voir aboutir prochainement l'effort de normalisation des méthodes de détection de la résistance pour les insectes d'intérêt agricole tenté par la F. A. O. (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture). Des groupes de travail sont constitués depuis 1965 qui s'intéressent à la mise au point de méthodes de détection sur les formes adultes et larvaires du groupe *Hylemya* ssp. Un même effort a déjà porté ses fruits dans le domaine des insectes vecteurs de maladies humaines grâce au rôle de coordination joué par l'O. M. S.

Reçu pour publication en janvier 1970.

SUMMARY

APPRECIATION OF THE ONION FLY RESISTANCE LEVEL, ACCORDING TO THE ORGANOCHLORINATED INSECTICIDES

The treatment failures enregistred in France to control the Onion fly have led us to measure the resistance levels according to the organochlorinated insecticides reached by several insect strains taken in french regions onion production. The method used to carry out measures are presented : the topical-application method and the impregnated-paper method with active ingredient for adults ; the dipping method for larvae. Obtained results show a high level of resistance occured by the topical application method for the female flies with regard to aldrin. These resistance factors are (× 653) in the department of the Manche, of the Côte-d'Or (Auxonne × 572), of Finistère (Roscoff × 490), of Hérault (Montpellier × 49) and in the Parisian Region (Cergy × 35). For lindane the resistance factors are lower : in the department of the Manche

(× 14) in the Côte-d'Or and Finistère (× 5) in Hérault and in the Parisian Region (× 6). For such aldrin resistance factors, the use on adult flies of impregnated papers with dieldrin and aldrin don't give satisfactory results. For the larval resistance, the dipping method is not enough accurate to reveal all the differences of sensibility level. The resistance larval factors are : in the department of the Côte-d'Or (Auxonne × 46), of Finistère (Roscoff × 41), of Hérault (Montpellier × 39) in the Parisian Region (Cergy × 37). Though the induction of a resistance for chlorinated insecticides is realized from the larval instar in the Onion fly, it is thus confirmed that the estimation sufficiently accurate of the sensibility levels is only obtained by operating on the insect adult instar.

We have perfected in glass-house a study method of the insecticides intented to replace the organochlorinated products in the practice by the soils treatment. The more effective and remanent insecticides are : trichloronate, chlorfenvinphos, dichlofenthion and carbophenothion.

To conclude we advise the alternation of active ingredients and the distribution by localized treatments in the soil of insecticides. We suggest the search of maximal and minimal quantities of insecticides to put in the soil according to their physico-chemical nature.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARNOLD A. J., 1965. Arnold microapplicator. *J. Sci. Instrum.*, **42**, 350-351.

AUDEMARD H., 1967. L'élevage permanent de la Mouche des semis *Phorbia platura* MEIG. (*Hylemya cilicrura* ROND.) 1-Pondoir artificiel. *Ann. Épiphyties*, **18**, 551-555.

AUDEMARD H., GUENNELON G., 1968. L'élevage permanent de la Mouche des semis (*Phorbia platura* MEIG. (*Hylemya cilicrura* ROND.). 2-Milieu artificiel d'élevage des larves *Ann. Épiphyties*, **19**, 713-719.

BROWN A. W. A., 1959. *Arthropods resistance to chemical.* O. M. S. Série des Monographies nº 38.

GOSTICKS K. G., BAKER M. P., 1968. Dieldrin-resistant cabbage root fly in England. *Ann. appl. Biol.*, **61**, 447-456.

HAYASHI A., ITOGA A., 1966. Studies on the testing methods for larvicides. I .Difference in evaluating the effectiveness of larvicides by various testing methods. *Botyu Kagaku*, **31**, 25-29.

HENNEQUIN J., LACROIX A., 1966. Efficacité et rémanence de quelques matières actives sur les larves de Mouches de l'Oignon résistantes aux insecticides organochlorés. *Phytiatr. Phytopharm.*, **15**, 277-282.

KEIDING J., 1967. Persistence of resistant populations after relaxation of the selection pressure. *World Rev. Pest Control*, **6** (4), 115-130.

LAFRANCE J., PERRON J. P., 1955. Floatation separator for collecting puparia of the onion maggot (*Hylemya antiqua* MEIG.) from the soil. *Soc. Québec Protect Plantes* (37), 43-46.

MARCH R. B., 1959. Resistance to organophosphorus insecticides. *Misc. Publ. Ent. Soc. Amer.*, **1**, 13-19.

MISSONNIER J., RAHN R., 1964. Remarques sur les techniques d'élevage des insectes phytophages. *Phytoma* (Paris), **163**, 11-18.

MISSONNIER J., STENGEL M., 1966. Étude des facteurs de fécondité des adultes de *Chortophila brassicae*, B., *Hylemya antiqua* M. et *Pegomya betae* C. *Ann. Épiphyties*, **17**, 5-41.

NIEMCZYK H. D., 1964. Mass rearing of the onion maggot (*Hylemya antiqua* MEIG.) under laboratory conditions. *J. Econ. Entomol.*, **57**, 57-60.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ, 1963. Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. *Sér. Rapports techniques* (265), 242 p.

PASCAL M., KUHL G., MISSONNIER J., 1967. Élevage aseptique sur milieu synthétique du Diptère *Hylemya antiqua* MEIG. *Ann. Soc. Entomol. Fr. N. S.*, **3**, 1141-1144.

READ D. C., 1965. Methods of testing *Hylemya* root maggots for insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.*, **58**, 719-727.

STEWARD W. W. A., MC KINLAY K. S., 1965. Dissimilarity of resistance in life stages of the turnips maggot (*Hylemya floralis* FALL.). *Canad. Entomol.*, **97**, 1166-1170.

TICHELER J. H. G., 1967. Study of the possibility of application of the sterile male technique on the onion fly. *Meded. Dir. Tuinb.*, **30** (6), 257-260.

TICHELER J. H. G., NOORDINK J. Ph. W., 1968. Application of the sterile male technique on the onion fly (*Hylemya antiqua* MEIG.) in the Netherlands. Progress report « Radiation, radio-isotopes and rearing methods in the control of insect pests » pp. 111-115. *International Atomic Energy Agency*, Vienne.

TOWGOOD J. G., BROWN A. W. A., 1962. Inheritance of dieldrin-resistance in the onion maggot. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **4**, 160-171.

TREVAN J. W., 1925. The micrometer syringue. *Biochem. J.*, **19**, 1111-1114.

Ann. Zool. Écol. anim., 1970, **2** (2), 281-294.

MISE AU POINT D'UNE PRÉPARATION ENTOMOPATHOGÈNE A BASE DE BLASTOSPORES DE *BEAUVERIA TENELLA* (DELACR.) SIEMASZKO POUR LA LUTTE MICROBIOLOGIQUE CONTRE LE VER BLANC (*MELOLONTHA MELOLONTHA* L.)(1)

G. CATROUX*, Janine CALVEZ*, P. FERRON** et H. BLACHÈRE*

**Station de Recherches de Microbiologie des Sols, Centre de Recherches de Dijon*

***Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocoenotique, Domaine de La Minière, 78 - Guyancourt par Versailles*

Institut national de la Recherche agronomique

RÉSUMÉ

La fabrication, à l'échelle semi-industrielle, d'une préparation entomopathogène à base de blastospores de *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO, active contre les larves du Hanneton commun, *Melolontha melolontha* L, a été mise au point.

La composition d'un milieu de culture pour la production de blastospores en fermenteur de 250 litres a été définie et les conditions optimales de fermentation ont été déterminées. La récolte et le conditionnement des blastospores après culture permettent d'obtenir une préparation titrant environ 10^{10} blastospores viables par gramme.

INTRODUCTION

La mise au point des techniques d'application de la méthode de lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures et des forêts nécessite l'expérimentation dans la nature sur des surfaces assez importantes pour permettre l'interprétation écologique des processus épizootiologiques. Il est donc indispensable de dis-

(1) Ce travail a été réalisé grâce au concours de la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (Convention de Recherche n° 68 01 288).

poser de quantités suffisantes de préparations microbiennes, produites à titre expérimental, pour introduire l'inoculum pathogène dans le biotope considéré. Déjà, à la fin du siècle dernier, les premiers expérimentateurs, tels que KRASSILSTCHIK (1888) en Ukraine et LE MOULT (1891-1923) en France, avaient mis en évidence ce point important et avaient multiplié, suivant des procédés artisanaux, les champignons entomopathogènes *Metarrhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN et *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO (*Fungi imperfecti*).

Depuis cette époque, les techniques industrielles de multiplication des microorganismes ont fait de très grands progrès et il est possible, actuellement, de cultiver certaines bactéries et quelques champignons inférieurs dans des cuves de fermentation pouvant atteindre des capacités de plusieurs centaines de milliers de litres, avec un excellent rendement et à peu de frais. Ce procédé est d'ailleurs déjà employé, dans le domaine de la lutte biologique, pour assurer la production de préparations entomopathogènes à base de la bactérie *Bacillus thuringiensis* BERLINER, commercialisées dans de nombreux pays. Les tentatives de multiplication des champignons sont plus récentes et concernent presque exclusivement l'espèce *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN, pathogène pour un grand nombre d'insectes (MÜLLER-KÖGLER, 1965).

Les champignons entomopathogènes du groupe des *Fungi imperfecti*, tels que les genres *Beauveria*, *Metarrhizium*, *Paecilomyces* et *Spicaria*, se cultivent facilement sur des milieux solides ou gélosés simples, en produisant des spores asexuées ou conidiospores, qui ont généralement de bonnes propriétés de conservation. Cependant cette technique de culture en surface ne peut être que difficilement transposée à l'échelle industrielle en raison des manipulations nombreuses qu'elle nécessite, de son rendement assez faible et surtout de la place indispensable au stockage de nombreux vases de culture (MÜLLER-KÖGLER, 1967).

Ce procédé a été néanmoins retenu par les chercheurs soviétiques de l'Institut Ukrainien de Protection des Plantes, à Kiev, pour assurer la production de la Beauverine, composée de conidiospores de *B. bassiana* mélangées à une charge de kaolin (FERRON, 1970). La technique de multiplication consiste tout d'abord à réaliser une culture du champignon en fermenteur pour obtenir une grande quantité de mycélium, puis à couler cette biomasse dans des cuvettes où le champignon sporule comme dans une culture de surface (ZAKHARCHENKO, PRIMAK et GORAL, 1963 ; TELENGA et GORAL, 1966 ; ZAKHARCHENKO, 1967). Aux États-Unis, la production de conidiospores de *B. bassiana* est réalisée à titre expérimental et suivant un procédé qui n'est pas révélé, par la firme Nutrilite Products Inc. (Buena Park, Californie) (DUNN et MECHALAS, 1963).

Depuis 1960, des recherches sont poursuivies par SAMŠIŇÁKOVÁ (1962, 1964, 1966) en Tchécoslovaquie pour mettre au point une technique de multiplication de *B. bassiana* en utilisant uniquement la culture en fermenteur. En effet, dans certaines conditions, ce champignon développe, en milieu nutritif liquide agité et aéré, des spores secondaires ou blastospores (1), qui sont également pathogènes pour les insectes, mais qui présentent l'inconvénient d'être moins résistantes aux conditions

(1) La dénomination « blastospores » pour les organes de multiplication obtenus par bourgeonnement des hyphes mycéliens et non sur l'arbuscule conidien typique des *Beauveria* est discutée par MÜLLER-KÖGLER (1965, p. 268). Dans la littérature, divers synonymes ont été employés : conidies ovales, blastocystes, arthrospores, oidies, spores secondaires, conidies primaires... Depuis les travaux de SAMŠIŇÁKOVÁ, le terme « blastospores » est usuellement employé en pathologie des insectes.

de conservation que les conidiospores. Plusieurs auteurs (ADAMEK, 1965 ; CORDON et SCHWARZ, 1962 ; FERRON, 1967 *a* ; KAWAKAMI, 1962 ; MOLITORIS, 1963 ; VEEN, 1968) ont montré que cette formation de spores secondaires en milieu liquide est une propriété commune à d'autres espèces de champignons entomopathogènes, tels que *Beauveria tenella*, *Metharrhizium anisopliae* et *Spicaria prasina* (MAUBL.) SAWADA, ce qui souligne l'intérêt de mettre au point un procédé technologique de production, qui pourrait être, avec de légères modifications, adapté à l'une ou à l'autre de ces espèces.

En France, les recherches sur les possibilités d'utilisation pratique des champignons entomopathogènes sont actuellement orientées sur la muscardine blanche à *B. tenella* des larves du Hanneton commun, *Melolontha melolontha* L., pris comme modèle d'insecte souterrain. Les recherches de laboratoire (FERRON, 1967 *a*) et les premières expérimentations dans la nature (FERRON, 1967 *b*) ont mis en évidence, parmi d'autres facteurs, l'importance de la quantité de l'inoculum utilisé pour contaminer la terre, de manière à assurer un développement suffisant de la maladie. C'est pourquoi, nous avons cherché un procédé de multiplication de ce champignon en milieu liquide, en fermenteur, qui nous semble le plus susceptible de pouvoir être industrialisé.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. *Choix de la souche*

La culture de *B. tenella* utilisée pour les expériences suivantes provient de la mycothèque de La Minière (souche B. t. 6). Elle a été isolée d'un ver blanc du Hanneton commun trouvé mort de muscardine blanche lors d'une prospection dans la nature. La souche est entretenue sur milieu gélosé à l'extrait de malt ou suivant la formule de Sabouraud et conservée au réfrigérateur à + 4°C. Lors d'expériences antérieures (FERRON, 1967 *a*) d'infection des larves de *Melolontha melolontha* L., cette souche de *Beauveria* était apparue comme la plus virulente de celles conservées en collection.

2. *Conditions de culture*

Les cultures ont été réalisées, principalement en fiole conique de 500 ml contenant 100 ml de milieu de culture. Ces fioles sont agitées sur un agitateur rotatif (200 tours/minutes-diamètre d'excentrique 5 cm) dans une chambre étuve à 23° ± 1°. Dans ces conditions, le coefficient d'échange d'oxygène, déterminé par la méthode de SCHULTZ et GADEN (1956) est de 0,40 millimoles d'oxygène par litre et par minute.

Les cultures avec régulation de pH ont été conduites en fermenteur de laboratoire. Ces cultures sont effectuées dans 7 litres de milieu de culture pour des fermenteurs d'une capacité totale de 10 litres. Le milieu de culture est agité à 350 tours/minute et aéré à raison de 200 litres d'air par heure. Le coefficient d'échange d'oxygène est dans ces conditions de 0,32 m/moles d'O_2 par litre et par minute. Les cultures obtenues en fiole de 500 ml et en fermenteur de 10 litres sont dans ces conditions très comparables après cinq jours de croissance. Pour la production, à l'échelon pilote, de grandes quantités de spores, nous avons utilisé un fermenteur de 250 litres contenant 150 litres de milieu agité à 400 tours par minute et aéré à raison de 50 litres d'air par minute.

Les cultures en fermenteur de laboratoire et en fermenteur de 250 litres ont été réalisées à 23° ± 1°.

3. *Techniques d'étude d'un milieu de culture pour la production des blastospores*

Tous les milieux de culture essayés ont été stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes pour les cultures en fioles et pendant une heure trente pour les fermenteurs de laboratoire.

L'inoculation des cultures en fioles s'effectue à partir de conidiospores mises en suspension dans l'eau à partir d'une culture sur tube gélosé. L'inoculum apporté, pour 100 ml de milieu de culture, est de l'ordre de 10^8 conidiospores. Les fermenteurs de laboratoire sont inoculés par une culture en fiole contenant 300 ml de culture titrant environ 10^9 blastospores par ml.

Le dénombrement des spores est effectué à la cellule de Malassez, pour obtenir un résultat immédiat, et par dilution et ensemencement de plaques d'un milieu contenant par litre en plus d'un milieu minéral : glucose 10 g, hydrolysat de caséine 2,5 g, extrait de levure 0,2 g, agar-agar 20 g.

Les dénombrements et mesures sur les cultures ont uniquement été effectués après trois jours et cinq jours de croissance pour les raisons suivantes :

— il n'a pas été possible de mettre en évidence une différence nette entre production de mycélium et production de spores et par conséquent des études cinétiques effectuées en vue d'améliorer l'une ou l'autre étaient superflues ;

— il était intéressant, en plus de la production totale de spores, d'avoir des indications sur la vitesse de production de ces spores puisque ce travail tend à mettre au point un procédé de fabrication de type industriel.

RÉSULTATS

1. *Mise au point d'un milieu de culture pour la production de blastospores*

A. — *Facteurs nutritionnels.*

Le choix des meilleures sources de carbone et d'azote pour la production à l'échelon semi-industriel de spores de *Beauveria tenella* s'est effectué sur un milieu minéral de base contenant par litre :

KH_2PO_4	2,268 g
Na_2HPO_4, $12H_2O$	11,94 g
$MgSO_4$, $7H_2O$	0,123 g
$FeSO_4$, $7H_2O$	0,028 g
$ZnSO_4$	0,020 g
K_2SO_4	0,174 g
$CaCl_2$, $2H_2O$	0,147 g

La présence de facteurs de croissance dans le milieu favorisant la production de spores, ce milieu minéral a été complété par 0,5 g par litre d'extrait de levure (Difco). SEGRETAIN et ARCOUTEIL (1970) ayant par ailleurs étudié la nutrition carbonée et azotée de *Beauveria tenella*, nous nous sommes limités à l'utilisation de substrats susceptibles d'être employés industriellement.

Sources de carbone utilisables.

Le glucose, le saccharose et l'amidon ont été comparés, la source d'azote étant le nitrate de potassium (2,5 g/litre). Par ailleurs, l'utilisation de la mélasse a été tentée.

Les résultats résumés dans le tableau 1 montrent que, à production identique de spores, le glucose et le saccharose sont utilisés plus rapidement que l'amidon. La mélasse donne des résultats inférieurs à ceux obtenus avec les autres sources de carbone.

TABLEAU I

Sporulation de Beauveria tenella *en présence de diverses sources de carbone*

	Culture de 3 jours			Culture de 5 jours		
	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml	pH	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml	pH
Glucose 1 p. 100 ...	190	2,9	5,5	340	3,1	6,6
Saccharose 1 p.100 .	200	2,9	5,6	340	2,8	6,6
Amidon 1 p. 100 ..	130	2,4	5,6	250	2,8	6
Glucose 0,5 p. 100 et amidon 0,5 p. 100	30	—	4,6	210	—	—

Sources d'azote utilisables.

Des sources d'azote minéral —KNO_3, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl— et des sources d'azote organique — urée, acides aminés — ont été comparées. La source de carbone était le glucose (1 p. 100) et le pH des milieux de culture n'était pas régulé. Les résultats, résumés dans le tableau 2, montrent que la souche étudiée est capable d'utiliser toutes les formes d'azote employées. Les différences observées entre les formes minérales d'azote semblent dues aux variations de pH. En effet, une expérience conduite avec régulation du pH du milieu de culture à 5,5 a montré que le chlorure d'ammonium permet d'obtenir des résultats identiques à ceux obtenus avec le nitrate de potassium ou les acides aminés.

TABLEAU 2

Sporulation de Beauveria tenella *en présence de diverses sources d'azote*

	Culture de 3 jours			Culture de 5 jours		
	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml	pH	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml	pH
KNO_3 0,25 p. 100	230	3,4	5,4	390	3,3	5,5
(NH_4SO_4) 0,25 p. 100	80	1,9	2,5	43	3,3	2,3
(NH_4Cl) 0,15 p. 100	300	2,1	2,3	100	3,4	1,9
Urée 0,25 p. 100				240	4	6,5
Acides aminés 0,25 p. 100 (hydrolysat de caséine)	100	4,1	3,6	200	4,2	3,7

Facteurs de croissance.

La souche étudiée est capable de se développer et d'être transférée indéfiniment sur un milieu de culture ne contenant que des sels minéraux, 1 p. 100 de glucose et 0,25 p. 100 de KNO_3. Cependant l'addition de 0,02 p. 100 d'extrait de levure favorise la production de spores, comme le montre la figure 1.

Le remplacement de l'extrait de levure par 0,5 p. 100 d'extrait soluble de maïs (1) (corn steep) donne de bons résultats, comparables à ceux obtenus par SAMŠIŇÁKOVÁ (1966) pour la culture de *Beauveria bassiana*.

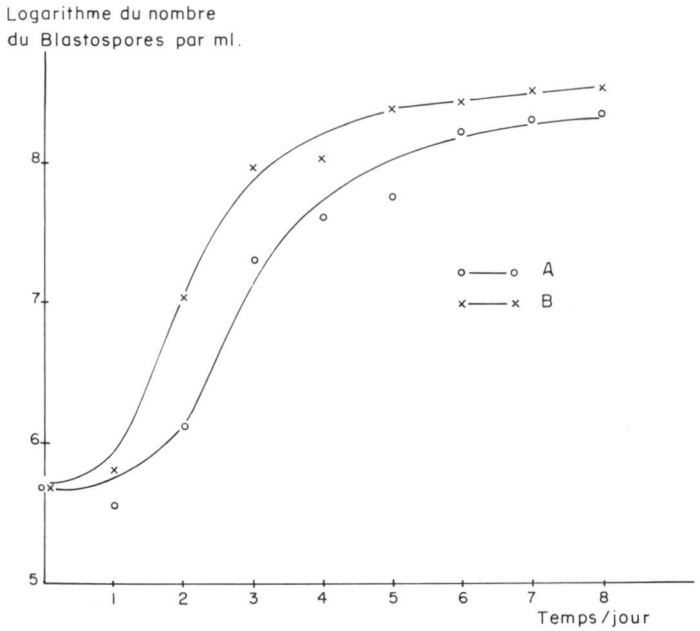


FIG. 1. — *Influence de l'extrait de levure sur la sporulation de* Beauveria tenella
A. — milieu minéral, 1 p. 100 glucose, 0,25 p. 100 KNO_3
B. — milieu minéral, 1 p. 100 glucose, 0,25 p. 100 KNO_3, 0,02 p. 100 extrait levure

Concentration en carbone et rapport carbone/azote.

L'influence de la concentration en carbone et du rapport carbone/azote du milieu de culture sur la sporulation a été étudiée pour deux valeurs du rapport C/N : 5 et 10.

TABLEAU 3

Influence de la concentration en carbone et du rapport C/N sur la sporulation de Beauveria tenella

Glucose	C/N = 5			C/N = 10		
	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml	pH	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml	pH
1 p. 100	120	3,2	6,0	180	3,0	6,1
2 p. 100	270	6,0	5,9	230	6,0	5,8
3 p. 100	390	9,4	5,8	340	8,9	5,8

(1) Extrait soluble de maïs : « Mazoferm ». Société des Produits du Maïs, 379 av. de la Libération, 92- Clamart.

Les résultats, résumés dans le tableau 3 montrent que le nombre de blastospores et la matière sèche obtenus après 5 jours de culture augmentent avec la concentration en carbone pour les deux valeurs de C/N étudiées.

Choix du milieu « industriel ».

La souche étudiée utilisant préférentiellement le glucose et le saccharose parmi les sources de carbone simples éprouvées, le saccharose a été retenu pour le milieu définitif. Pour la source d'azote, le nitrate de potassium, qui n'impose pas de régulation du pH du milieu de culture, a été choisi. Les facteurs de croissance, permettant d'accélérer la sporulation, sont apportés par l'extrait soluble de maïs, de même que la plupart des oligoéléments. Ceci permet d'utiliser indifféremment le milieu minéral déjà décrit ou un milieu minéral simplifié.

Le milieu définitivement adopté se compose de (par litre) :

Saccharose	30 g
KNO_3	5 g
Extrait soluble de maïs	20 g
KH_2PO_4	6,8 g
$CaCO_3$	0,2 g
$MgSO_4$, $7H_2O$	0,1 g

Le milieu est ajusté à pH : 4,5 avant stérilisation ; le saccharose est stérilisé à part et ajouté au milieu lors de l'inoculation. Ce milieu permet d'obtenir régulièrement des cultures titrant après 3 jours de culture de 2 à 5 . 10^8 blastospores pour 16 mg de matière sèche et après 4 à 5 jours de 1 à 1,4 . 10^9 spores viables pour 13 mg de matière sèche. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par FERRON (1967 *c*) avec le milieu de SAMŠIŇÁKOVÁ mis au point pour *Beauveria bassiana* (1 à 5 . 10^8 blastospores), mais dans des conditions de culture non strictement comparables.

B. — *Facteurs physico-chimiques.*

Influence du pH du milieu de culture.

Des essais préliminaires ont montré que si le pH du milieu « industriel » est ajusté au départ entre 3 et 7, on n'observe pas de différences nettes, après 5 jours, pour la sporulation. Dans tous les cas, le pH a tendance à se stabiliser entre 5,5 et 6,5.

TABLEAU 4

Influence du pH du milieu de culture sur la sporulation de Beauveria tenella

pH	Culture de 3 jours		Culture de 5 jours	
	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml	Spores 10^6/ml	M. sèche mg/ml
4,5	1 200	15,3	1 300	11,5
6	580	17,6	1 400	14,9
7,5	540	18,1	870	12,6

Des expériences conduites en fermenteur de laboratoire, en régulant le pH du milieu de culture « industriel » aux trois valeurs 4,5-6 et 7,5 n'ont montré aucune différence nette entre pH = 4,5 et pH = 6. Par contre, la sporulation semble moins bonne à pH = 7,5. Ces résultats sont résumés dans le tableau 4.

Aération du milieu de culture.

L'influence de l'aération a été étudiée en fioles coniques de 500 ml contenant un volume de milieu de culture variant de 60 à 300 ml et permettant d'obtenir un coefficient de transfert d'oxygène variant de 0,15 à 1,24 millimoles d'oxygène par litre et par minute. Ces coefficients ont été déterminés par la méthode de SCHULTZ et GADEN (1956). Les résultats, résumés dans le tableau 5 montrent que, dans les limites étudiées, l'aération n'influe pas sur la sporulation après 5 jours de culture.

TABLEAU 5

Influence de l'aération du milieu de culture sur la sporulation de Beauveria tenella

Volume de milieu ml par fiole de 500 ml	Coefficient transfert d'oxygène mMoles/l/min.	Spores 10^6/ml	Matière sèche mg/ml
300	0,15	1 200	19,1
240	0,24	1 200	19,9
180	0,34	1 170	18,0
120	0,37	1 150	15,4
60	0,58	1 280	14,9
100[1]	1,24	1 220	11,5

(1) Fiole conique de 500 ml modifiée par quatre pointes augmentant la turbulence du milieu de culture.

Utilisation de produits antimoussants.

La culture de *Beauveria tenella* en fermenteur, s'accompagne toujours d'une forte production de mousse. Afin d'en assurer le contrôle, l'utilisation des produits suivants a été expérimentée :

Rhodorsil 426 R (1) (composé siliconé)
Struktol KG (2) (émulsion d'huile dans l'eau avec une forte proportion d'un agent tensio-actif).
Struktol J 21(2) (combinaison d'esters hydrophiles d'acides gras avec des substances ayant une activité de surface et des produits tensio-actifs)
Deairex 277 (3) (graisse molle donnant dans l'eau des émulsions laiteuses).
Alcool octylique

(1) Rhône-Poulenc, 22 av. Montaigne, BP 753 08, Paris.
(2) Schill et Seilacher. Chemische Fabrik, Hambourg.
(3) Houghton, BP 53, Puteaux (92).

Ces composés n'ont pas d'influence notable sur la sporulation à des concentrations de 0,02 à 0,1 p. 100 dans le milieu de culture. Cependant, l'activité « antimousse » de ces produits reste faible et finalement le contrôle de la production de mousse s'est effectué en utilisant des conditions d'aération faible et en ajoutant au milieu de culture le Rhodorsil 426 R à raison de 1 p. 100.

2. *Obtention et conditionnement des blastospores à l'échelon pilote*

L'ensemble des opérations de culture, de récolte et de conditionnement des spores de *Beauveria tenella* pour une production de 150 litres est résumé dans la figure 2.

Le fermenteur contenant 150 litres de milieu liquide est inoculé par 7 litres d'une culture âgée de 3 à 5 jours et contenant de $5 \cdot 10^8$ à $1{,}2 \cdot 10^9$ blastospores/ml. La sporulation atteint son maximum après 3 à 5 jours avec 1 à $1{,}4 \cdot 10^9$ spores viables par ml. Après des essais infructueux de filtration, avec ou sans adjuvant de filtration, les spores ont finalement été récoltées par centrifugation de la culture à 7.500 tours/minute dans une centrifugeuse à rotation continue.

Les spores et le mycélium sont récupérés sous forme de 10 kg de sédiment contenant environ 20 p. 100 de matière sèche et titrant environ 9×10^{10} spores viables par gramme de matière sèche.

La centrifugation a un rendement de 70 p. 100 en spores viables par rapport à la culture, des pertes estimées à 15 p. 100 étant attribuées aux difficultés de récolte du sédiment. Celui-ci est alors mélangé à raison de 5 kg pour 2 kg de perlite expansée (Clarcel FLOL(1)), la préparation humide obtenue titrant $8 \cdot 10^9$ à $1{,}3 \cdot 10^{10}$ spores viables par gramme. Les opérations de récolte et conditionnement ne sont pas réalisées aseptiquement.

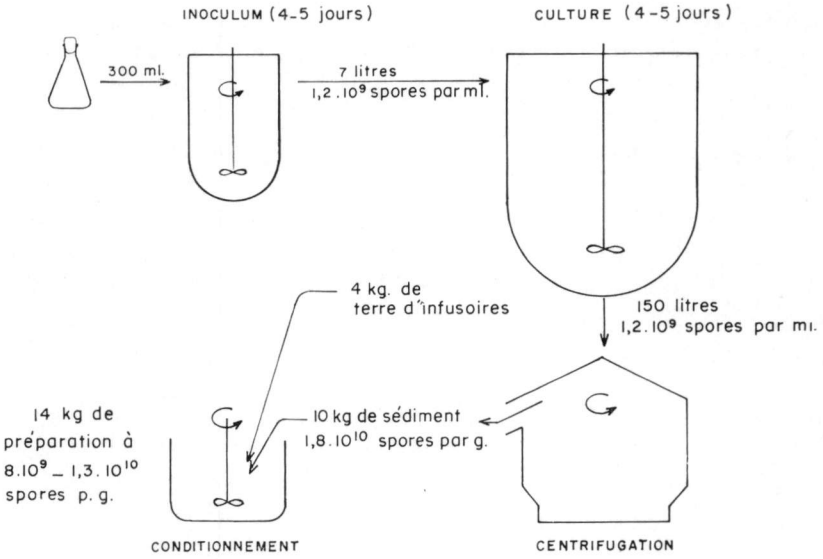


FIG. 2. — *Culture, récolte et conditionnement de* Beauveria tenella *à l'échelon pilote*

(1) Ceca, 2 rue Murillo, Paris 8e.

Cette préparation est conservée à 4° en sacs de polyéthylène soudés. Dans ces conditions, il reste après 15 jours de conservation 34 p. 100 et après 2 mois 11 p. 100 de spores viables. Nous avons noté la présence de nombreux germes contaminant la préparation conservée à 4°.

3. *Contrôle de la virulence de la préparation entomopathogène*

L'efficacité de la préparation de blastospores a été vérifiée dans les conditions du laboratoire par infection expérimentale des larves de *Melolontha melolontha* L, suivant la technique décrite par FERRON (1967 *a*) : les insectes sont élevés individuellement dans des boîtes en polystyrène d'une capacité de 250 cm³, remplies aux deux-tiers de tourbe humidifiée et contaminée par une quantité connue de spores. L'élevage infecté est conduit à 20°C, l'alimentation des larves étant assurée par une rondelle de carotte renouvelée chaque semaine. Un contrôle hebdomadaire de l'état sanitaire des larves est effectué de manière à suivre le développement de l'infection et à dénombrer les cas de mycose.

Pour répéter les expériences dans les mêmes conditions il est indispensable de titrer la préparation biologique juste avant la contamination de la tourbe d'élevage par ensemencement de boîtes de Pétri remplies d'un milieu nutritif gélosé (Sabouraud maltosé par exemple) suivant la technique des dilutions. Il est ainsi possible de déterminer le nombre de spores viables par gramme de produit et d'infecter la tourbe avec une quantité connue de l'ordre de 10 millions de spores par gramme. L'inoculum est introduit dans le substrat sous forme d'une suspension aqueuse dans un pétrin mécanique qui assure une bonne homogénéité au mélange (350 grammes de tourbe sèche, 400 ml d'eau).

Il a été ainsi vérifié que l'efficacité de la préparation biologique est tout à fait comparable à celle de suspensions de blastospores obtenues au laboratoire en erlenmeyers (FERRON, 1967 *a*). A la dose de 10 millions de spores par gramme de tourbe,

TABL

Cas de mycoses observés sur des lots de 25 vers blancs du troisième stade élevés à 20°C dans de la tourbe
températures

Cas de mycoses		Avant stockage		Après 5 semaines				Après 10 semaines			
variantes		t	T	t	— 25°	— 8°	+ 6°	t	— 25°	— 8°	+ 6°
mortalité après	1 mois	1	9	0	10	10	10	0	5	5	5
	2 mois	2	20	1	20	18	19	0	18	20	17
	3 mois	2	24	2	24	23	24	1	21	22	20

t = lot témoin, T = lot traité
les mortalités cumulées sont indiquées après 1, 2 et 3 mois d'élevage.

la mortalité due à la mycose atteint 80 p. 100 à 90 p. 100 des individus en 3 mois, alors que 5 mois sont nécessaires à une dose dix fois plus faible.

Par cette même méthode d'infection des vers blancs, nous avons étudié la conservation des blastospores dans la charge inerte de Clarcel en fonction du temps. Une culture de blastospores réalisée au laboratoire a été filtrée puis titrée à la cellule hématimétrique.

Des volumes égaux de cette suspension, contenant chacune 350 . 10^7 blastospores, quantité nécessaire pour contaminer 350 grammes de tourbe, ont ensuite été mélangés à 10 grammes de Clarcel de façon à constituer une préparation humide. Celle-ci a été partiellement desséchée sous vide dans des tubes d'Alihn et la poudre obtenue a été conservée en flacon fermé à différentes températures constantes (— 25°C — 8°C, + 6°C). Cette gamme de températures a été choisie en fonction des résultats d'une expérience préliminaire sur la survie des blastospores dans la terre à + 25°C, + 20°C, + 13°C et + 6°C et qui avait montré que ces spores se conservent d'autant mieux que la température est plus basse. Un contrôle d'efficacité fut effectué avant le stockage puis successivement après 5, 10, 20, 30 et 50 semaines. Les résultats indiqués dans le tableau 6 montrent qu'au delà de 20 semaines, les cas de mycose pour chaque lot de 25 vers blancs mis en expérience diminuent sensiblement ; cependant la survie des blastospores est la plus grande aux températures inférieures à 0°C. Des contrôles analogues ont été tentés sur la préparation semi-industrielle conservée à + 4°C sous sac en polyéthylène, mais le plus souvent le développement de champignons saprophytes dans la préparation humide après 2 mois de stockage a empêché la réalisation des expériences. D'après ces résultats, il apparaît donc nécessaire de définir les meilleures conditions de conservation de la préparation semi-industrielle, de façon à disposer du plus grand nombre possible de blastospores viables au moment du traitement.

Pour limiter cet inconvénient, la production de grandes quantités de préparation entomopathogène pour la réalisation d'expérimentations dans la nature est demandée

EAU 6

contaminée par des échantillons de blastospores mélangés à du Clarcel et conservés à différentes constantes.

Après 20 semaines				Après 30 semaines				Après 50 semaines			
t	— 25°	— 8°	+ 6°	t	— 25°	— 8°	+ 6°	t	— 25°	— 8°	+ 6°
1	10	9	10	0	4	2	0	2	9	7	2
2	25	25	21	1	9	12	1	4	15	15	6
4	25	25	23	1	15	15	3	4	17	16	7

juste avant l'époque des traitements. Ceux-ci ont lieu au printemps de l'année suivant celle des vols de Hanneton, donc sur des larves du deuxième stade, au moment où les pluies sont abondantes et la température encore basse, ce qui favorise la pénétration des spores en profondeur car la végétation herbacée est peu développée.

La dispersion de la préparation est obtenue soit avec un appareil distributeur d'engrais pour les grandes surfaces, soit à la main pour les dispositifs en parcelle de 400 m² chacune, à raison de 100 kg à l'hectare, ce qui représente environ 10 milliards de spores par m².

Les contrôles de l'efficacité du traitement sont effectués en juillet et en septembre au moyen de sondages d'1/4 de mètre carré sur 30 cm de profondeur (75 trous à l'hectare pour les dispositifs en bandes alternées, 9 trous par parcelle de 400 m² pour les expériences en carré latin). Les résultats de ces expériences seront publiés ultérieurement. Les observations faites jusqu'à présent confirment les conclusions des précédentes expériences sur des populations artificielles de vers blancs et de petites surfaces (FERRON, 1967 *b*). C'est pourquoi nous portons actuellement nos efforts d'une part sur l'amélioration de la conservation de la préparation entomopathogène et d'autre part sur l'augmentation de la sensibilité des larves de Hanneton à la mycose par des facteurs affaiblissants permettant soit de réduire la quantité de spores soit d'accélérer le processus infectieux.

CONCLUSION

L'étude des exigences nutritionnelles de *Beauveria tenella* en vue de mettre au point un milieu de culture industriel a confirmé les observations faites par SEGRETAIN et ARCOUTEIL (1970).

Le caractère saprophyte prononcé de la souche étudiée est à remarquer ainsi que sa capacité d'utilisation de sources de carbone et d'azote très variées. La souche étudiée se développe bien dans les milieux peu aérés et est peu sensible aux variations de pH.

Ce manque d'exigences peut avoir une influence sur l'aptitude du champignon à survivre dans le sol après un traitement aux champs.

Il est intéressant de comparer le milieu que nous avons mis au point pour *Beauveria tenella* aux autres milieux utilisés pour la multiplication semi-industrielle de *Beauveria bassiana*. Le tableau 7 donne la composition et une estimation de la quantité d'azote total de ces différents milieux.

En nous limitant au milieu de (SAMŠIŇÁKOVÁ 1966), pour lequel des rendements en blastospores ont été publiés, le tableau 7 montre que nous utilisons un milieu plus riche en azote, environ 1,5 g par litre au lieu de 0,8 g/l.

C'est probablement ce qui nous permet d'obtenir une production de blastospores deux fois plus importante après 4 à 5 jours de culture. Par ailleurs, nous n'avons pas constaté de perte de viabilité des blastospores après 5 jours de culture.

Nous disposons donc actuellement d'une technique de fabrication simple d'une préparation de spores virulentes de *Beauveria tenella* titrant après 2 mois de conservation environ $8 \cdot 10^8$ blastospores viables par gramme. Ce taux de survie, s'il permet d'effectuer les expérimentations d'infection des insectes, n'autorise cependant pas

un stockage suffisant et diminue certainement l'efficacité du traitement. L'utilisation des techniques de déshydratation des spores devrait permettre d'améliorer les qualités et la conservation de la préparation entomopathogène obtenue. Des travaux sont actuellement en cours dans cette direction.

TABLEAU 7

Comparaison des différents milieux liquides de multiplication semi-industrielle de Beauveria

Beauveria bassiana				*Beauveria tenella*	
Samšiňáková (1964, 1966)		Telenga et Goral (1966)		Catroux *et al.* (1970)	
Composition pour 1 litre de milieu					
Glucose	25 g	Mélasse	40 à 60 g	Saccharose	30 g
Amidon de pomme de terre	25 g				
		Extrait soluble de maïs	10 g	Extrait soluble de maïs	20 g
				KNO_3	5 g
NaCl	5 g	KH_2PO_4	2 g	KH_2PO_4	6,8 g
$CaCO_3$	2 g	$MgSO_4, 7H_2O$	0,5 g	$CaCO_3$	2 g
Huile végétale	1 à 2 ml	Huile végétale	4 g	$MgSO_4, 7H_2O$	0,1 g
pH	4 à 5	pH	5	pH	4,5
Estimation de l'azote total par litre de milieu	0,8 g		1,4 g		1,5 g
Maximum de blastospores viables par ml	$6,4 \cdot 10^8$				$1,4 \cdot 10^9$

Il importe enfin de souligner que l'emploi du saccharose (au lieu du glucose), des résidus des industries de transformation du maïs et du nitrate de potassium comme constitutants fondamentaux du milieu de culture assure la multiplication du champignon à un prix de revient très faible. Cet avantage ne pourrait être qu'augmenté par l'utilisation de fermenteurs de très grande capacité dans lesquels la régulation de la production de mousse peut être obtenue plus aisément avec des produits de rebut et par une formulation plus simple de la préparation entomopathogène en utilisant par exemple de la tourbe pulvérisée à la place de la perlite expansée.

Reçu pour publication en janvier 1970.

SUMMARY

ELABORATION OF A BLASTOSPORE PREPARATION OF *BEAUVERIA TENELLA* (DELACR.) SIEMASZKO FOR THE MICROBIAL CONTROL OF WHITE GRUBS

The conditions of multiplication in a 250 liter-fermentor of the insect-pathogenic fungus *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO are described. The liquid medium is composed of saccharose, corn steep liquor, KNO_3, KH_2PO_4, $CaCo_3$ and $MgSO_4$, 7 H_2O. After 3 to 5 days at 23°C, the

blastospores are collected by centrifugation and the sediment is mixed with perlite. With 150 liter-liquid medium in a 250 liter-fermentor, 14 kg of biopreparation containing 8.10^9 to $1,3.10^{10}$ viable blastospores per gramm are collected. The virulence of this biopreparation is tested on white grubs of *Melolontha melolontha* L. in laboratory conditions.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADAMÉK L., 1965. Submersed cultivation of the fungus *Metarrhizium anisopliae* (METSCH.). *Folia microbiol.*, (Praha), **10**, 255-257.

CORDON T. C., SCHWARTZ J. H., 1962. The fungus *Beauveria tenella*. *Science*, **138**, 1265-1266.

DUNN P. H., MECHALAS B.-J., 1963. The potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as a microbial insecticide. *J. insect. Pathol.*, **5**, 451-459.

FERRON P., 1967 *a*. Étude en laboratoire des conditions écologiques favorisant le développement de la mycose à *Beauveria tenella* du Ver blanc. *Entomophaga*, **12**, 257-293.

FERRON P., 1967 *b*. Essais préliminaires de lutte contre les larves du Hanneton commun, *Melolontha melolontha* L., à l'aide de la mycose à *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO. *Phytiatr. Phytopharm.*, **16**, 115-123.

FERRON P., 1967 *c*. Les possibilités de lutte microbiologique contre *Melolontha melolontha* L., au moyen de la mycose à *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO. in « Insect Pathology and Microbial control. *Proceed. intern. Colloq. Insect. Pathol. Microbiol. control. Wageningen.* 1966 North Holland Publish. Co. p. 204-209.

FERRON P., 1970. Orientations des recherches effectuées en U. R. S. S. sur les champignons entomopathogènes. *Ann. Zool. Écol. anim.* (sous presse).

KAWAKAMI K., 1962. Studies on the cylindrical spores of muscardines. II. The growth of muscardines in the shaking culture with liquid media. *Bull. sericult. Exp. Stn* (Tokyo), **18**, 147-156.

KRASSILSTCHIK J., 1888. La production industrielle des parasites végétaux pour la destruction des insectes nuisibles. *Bull. Sci. Fr. Belg.*, **19**, 461-472.

LE MOULT L., 1891. Le parasite du Hanneton. *C. R. Acad. Sci.*, **112**, 1081-1083.

LE MOULT L., 1923. La destruction des insectes nuisibles par les parasites végétaux. *Rev. Botan. appl.*, **3**, 85-102.

MOLITORIS H. P., 1963. Untersuchungen an *Beauveria tenella*. II. Wachstum, Stoffwechsel, Fettspeicherung und Enzymaktivitäten. *Archiv. Mikrobiol.*, **47**, 72-103.

MÜLLER-KÖGLER E., 1965. *Pilzkrankheiten bei Insekten. Anwendung zur biologischen Schädlingsbekämpfung und Grundlagen der Insektenmykologie*. P. Parey édit. Berlin et Hamburg, 444 p.

MÜLLER-KÖGLER E., 1967. On mass cultivation, determination of effectiveness and standardization of insect pathogenic fungi. In : Insect Pathology and Microbial Control. Proceed. of the *Intern. Colloq. Insect Pathol., Microbiol. Control Wageningen*, 1966. North-Holland Publ Co., Amsterdam, p. 330-353.

SAMŠIŇÁKOVÁ A., 1962. Zur Kultivierung der entomopathogenen Pilze. *Verh. XI. Int. Kongr. Entomol.*, (Wien, 1960), **2**, 863.

SAMŠIŇÁKOVÁ A., 1964. Sporengewinnung von *Beauveria bassiana* (BALS.). VUILL. aus Submerskulturen. *Naturwissensch.*, **51**, 121-122.

SAMŠIŇAKOVÁ A., 1966. Growth and sporulation of submersed cultures of *Beauveria bassiana*, in various media. *J. Invert. Pathol.*, **8**, 395-400.

SCHULTZ J. S., GADEN E. L., 1956. Sulfite oxidation as a measure of aeration effectiveness. *Ind. Eng. Chem.*, **48**, 2209-2212.

SEGRETAIN G., ARCOUTEIL A., 1970. Études sur la morphologie, la nutrition et la sensibilité aux antibiotiques de *Beauveria tenella* (DELACR., SIEMASZKO (en préparation).

TELENGA N A., GORAL V. M., 1966. Nouveauté dans la culture du champignon de la muscardine blanche en milieu liquide. *Conf. Samarcande, Iz. Fan. R. S. S. Uz.*, Tachkent, 171-173.

VEEN K. H., 1968. Recherches sur la maladie due à *Metarrhizium anisopliae* chez le criquet pèlerin. *Meded. Landbouwhogeschool* Wageningen, 68-5, 77 p.

ZAKHARCHENKO N. L., 1967. Procédé technologique du développement de *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN dans les conditions semi-industrielles par des méthodes combinées. *Zachtchita rast.*, Kiev, **4**, 134-138.

ZAKHARCHENKO H. L., PRIMAK T. A., GORAL B. N., 1963. La production semi-industrielle du champignon de la muscardine dans un milieu nutritif liquide. in : *Coloradski jouk ta novi metody borot'by z nym. Naouki pratsi*, **12**, Derjsilhosprydov. Kiev, 102-106 (en ukrainien).

Ann. Zool. Écol. anim., 1970, **2** (2), 295-299.

INFECTION A VIRUS IRISANT DANS UNE POPULATION NATURELLE D'*AEDES DETRITUS* HALIDAY EN FRANCE (1)

S. HASAN, G. CROIZIER, C. VAGO et J.-L. DUTHOIT

Station de Recherches Cytopathologiques, 30 - Saint-Christol
Institut national de la Recherche agronomique

RÉSUMÉ

Une maladie de type « virose irisante » a été mise en évidence dans les populations camargaises (midi de la France) d'*Aedes detritus*. Le virus s'est révélé morphologiquement et sérologiquement identique à l'agent d'une virose irisante découverte par VAGO *et al.* (1970) en Tunisie. Bien que les deux souches aient été isolées respectivement d'Afrique et d'Europe, la maladie semble être particulièrement inféodée au littoral méditerranéen.

INTRODUCTION

Les viroses du type « irisant », remarquées d'abord chez le Diptère *Tipula paludosa* MEIGEN (XEROS, 1954), le Coléoptère *Sericesthis prunosa* DALMAN (STEINHAUS et LEUTENEGGER, 1963) et le Lépidoptère *Chilo suppressalis* WALKER (FUKAYA et NASU, 1966) ont acquis une importance particulière dès qu'elles ont été notées chez plusieurs espèces de culicides : *Aedes taeniorhynchus* WIEDEMANN ((CLARK, KELLEN et LUM, 1965), *Aedes fulvus* WIEDEMANN, *Aedes vexans* MEIGEN et *Psorophora ferox* HUMBOLDT (CHAPMAN *et al.*, 1966), *Aedes stimulans* WALKER (ANDERSON, 1970) aux U. S. A., *Aedes annulipes* MEIGEN (WEISER, 1965) en Tchécoslovaquie, et *Aedes detritus* HALIDAY (VAGO *et al.*, 1970) en Tunisie.

En effet, ce sont les seules maladies virales connues chez les moustiques, groupe d'insectes de grande importance médicale.

Dans le présent travail nous signalons l'observation du premier cas de maladie irisante dans le sud de l'Europe.

(1) Travail réalisé en partie dans le cadre d'une convention D. R. M. E.

ORIGINE ET SYMPTÔMES

Plusieurs larves malades ont été remarquées au début du printemps 1970 dans un gîte d'*A. detritus* situé au sud-ouest du delta du Rhône près d'Aigues-Mortes. Cette partie de la Camargue est occupée par des marécages salés. Des bouquets de Tamaris et un peuplement assez dense de Genévriers de Phénicie (*Juniperus phoenicis*) constituent l'essentiel de la végétation (fig. 1). Les principales espèces de moustiques qui se propagent dans les gîtes sont *A. detritus* et *A. caspius*. En hiver et au début du printemps on ne rencontre que la première espèce, le reste de l'année la seconde espèce domine.

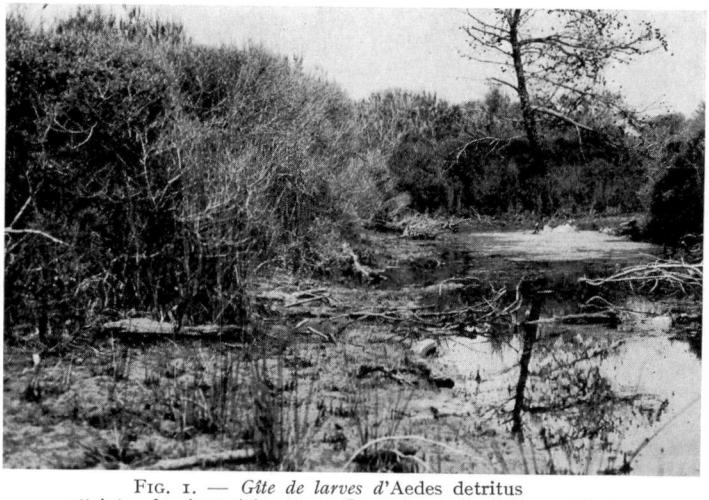


FIG. 1. — *Gîte de larves d'*Aedes detritus
atteintes de virose irisante en Camargue près d'Aigues-Mortes

Environ un quart de la population larvaire du 3e et 4e stade montre une certaine lenteur dans les mouvements et une iridescence verdâtre.

Au début de la maladie les larves, observées contre un fond noir, sont caractérisées par une décoloration des deux côtés de l'abdomen. Par la suite le thorax s'hypertrophie et présente des reflets irisés vert turquoise. En fin d'évolution de l'affection l'activité des larves est de plus en plus réduite et elles montent difficilement à la surface de l'eau peu avant de mourir. L'épiderme devient relativement fragile et l'hémolymphe sortant des larves est épaisse et laiteuse en raison de la lyse prononcée du tissu adipeux.

MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE ET HISTOLOGIE

L'examen direct en microscopie électronique du tissu adipeux lysé, montre après coloration négative à l'acide phosphotungstique, la présence de nombreux virions non-inclus dans des corps protéiniques. Les particules comprennent un centre

dense entouré d'une zone plus claire et d'une membrane (fig. 2). Elles semblent être icosaédriques comme celles décrites par CLARK *et al.* (1965) chez *A. taeniorhynchus.*

Les particules virales purifiées par centrifugation différentielle ont un diamètre de 180 mμ. Elles ont donc une taille semblable à celles de la plupart des virus irisants de moustiques à l'exception du virus irisant d'*A. stimulans* dont les particules mesurent 135 mμ.

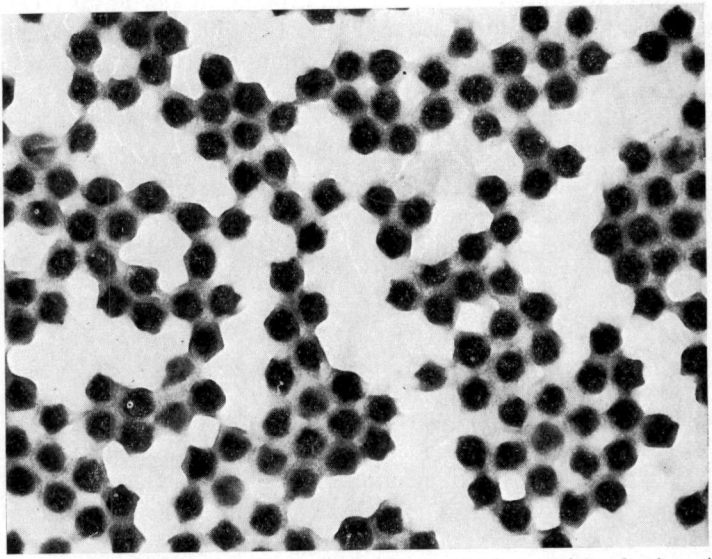


FIG. 2. — *Virions purifiés à partir de larves d'*Aedes detritus *atteintes de virose irisante.* Acide phosphotungstique. Micr. électr. × 30 000

L'étude histologique faite après fixation des larves dans le liquide de Carnoy et coloration de Feulgen révèle dans le cytoplasme des cellules du tissu adipeux de nombreuses plages Feulgen positives. Ces plages correspondent à la présence d'ADN du fait de l'accumulation de masses importantes de virions comme cela apparaît sur des coupes ultrafines de cellules adipeuses.

D'après l'ensemble de ces observations, la maladie paraît très proche de celle décrite sur la même espèce de moustique par VAGO *et al.* (1970) en Tunisie. Un examen sérologique a permis de préciser les parentés entre les souches de MIV.

ÉTUDE SÉROLOGIQUE

Nous avons comparé les souches de virus irisants tunisienne et camarguaise par immunodiffusion en gel afin d'établir leur sérotypes respectifs.

Un lapin a été immunisé contre du MIV tunisien produit par des larves de *A. detritus* infectées expérimentalement au laboratoire (HASAN, VAGO et KUHL, 1970). Les suspensions virales pures ont été obtenues après centrifugations différentielles et la qualité de la suspension a été vérifiée en microscopie électronique.

Deux inoculations espacées d'un mois ont été pratiquées en injectant par voie

sous-cutanée, un mélange à parties égales de suspension de MIV et d'adjuvant de Freund. La dose inoculée correspond à la quantité de virus obtenu à partir de 10 larves.

Le sang est prélevé un mois après la dernière immunisation.

Nous avons utilisé la microtechnique de diffusion sur lame. Chaque lame est recouverte d'une solution d'agarose à 1 p. 100 dans un tampon phosphate. Lorsque celle-ci est prise en masse, les suspensions de MIV sont introduites dans les réservoirs à antigènes. Après résorption du liquide, on attaque *in situ* le MIV en remplissant ces mêmes réservoirs avec de la soude 0,3 N. Les antigènes des virions sont ainsi libérés et peuvent diffuser dans le gel. Les immunsérums sont introduits dans leurs puits respectifs lors de l'attaque alcaline.

On observe dans les essais entre l'immunsérum anti-MIV (tunisien) et les suspensions de MIV tunisien et camarguais, deux immunoprécipités. La comparaison des antigènes de ces deux suspensions, conduit ainsi à la mise en évidence de réactions d'identité. Les données sérologiques actuelles ne permettent donc pas de différencier ces virus isolés géographiquement.

CONCLUSION

Une maladie d'*Aedes detritus* observée en Camargue s'est révélée être une virose irisante. Les observations relatives à la morphologie et à l'action pathogène du virus ainsi que l'étude sérologique indiquent que l'agent de cette virose est très proche sinon identique à celui de la virose irisante décrite sur la même espèce d'*Aedes* par VAGO *et al.* (1970) en Tunisie.

Il est particulièrement intéressant de souligner du point de vue de l'écologie des viroses que les deux souches de MIV sont originaires de deux continents différents mais leurs biotopes respectifs sont situés sur le littoral méditerranéen.

Reçu pour publication en juin 1970.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le docteur COUSSERANS, Directeur opérationnel de l'Entente Interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen, de l'aide qu'il nous a accordée dans la prospection des gîtes et du vif intérêt qu'il a manifesté pour ce travail.

SUMMARY

INFECTION OF AN IRIDESCENT VIRUS IN A NATURAL POPULATION OF *AEDES DETRITUS* HALIDAY IN FRANCE

An iridescent virus has been isolated from a naturally infected population of *Aedes detritus* in Camargue (Southern France). Morphologically and serologically the virus is identical to the causitive agent of an iridescent virosis discovered by VAGO *et al.* (1970) in Tunisia. Although the two strains are being isolated from Africa and Europe respectively the disease seems to be specially related to the Mediterranean littoral.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDERSON J. P., 1970. An iridescent virus infecting the Mosquito *Aedes stimulans*. *J. Invert. Pathol.*, **15**, 219-224.

CHAPMAN H. C., CLARK T. B., WOODARD D. B., KELLEN W. R., 1966. Additional mosquito hosts of the mosquito iridescent virus. *J. Invert. Pathol.*, **8**, 545-546.

CLARK T. B., KELLEN W. R., LUM P. T. M., 1965. A mosquito iridescent virus (MIV) from *Aedes taeniorhynchus* (WIEDMANN). *J. Invert. Pathol.*, **7**, 519-521.

FUKAYA M., NASU S., 1966. A chilo iridescent virus (CIV) from the rice stem borer *Chilo suppressalis* WALKER (Lepidoptera : Pyralidae). *Appl. Entomol. Zool.*, **1**, 69-72.

HASAN S., VAGO C., KUHL G., 1970. *Further studies on the iridescent virus of* Aedes detritus HAL. *from Tunisia* (sous presse).

STEINHAUS E. A., LEUTENNEGGER R., 1963. Icosahedral virus from a scarab (*Sericesthis*). *J. Insect. Pathol*, **5**, 266-270.

VAGO C., RIOUX J.-A., DUTHOIT J.-L., DEDET J.-P., 1970. *Infection spontanée à virus irisant dans une population d'*Aedes detritus (HAL. 1833) *des environs de Tunis* (sous presse).

WEISER J., 1965. A new virus infection of mosquito larvae. *Bull. O. M. S.*, **33**, 586-588.

XEROS N., 1954. A second virus disease of the Leatherjacket, *Tipula paludosa*. *Nature*, **174**, 562.

Ann. Zool. Écol. anim., 1970, **2** (2), 301.

CHRONIQUE DES LIVRES

RUWET (J. C.). — ÉTHOLOGIE : BIOLOGIE DU COMPORTEMENT. — Bruxelles, Charles Dessart, Coll. « Psychologie et Sciences humaines », 1969, 238 p.

L'auteur, professeur à la Faculté des Sciences de l'Université de Liège et attaché au laboratoire de Biologie générale du Département de Zoologie, enseigne l'éthologie aux zoologistes et aux psychologues.

Son ouvrage condense, en quelques chapitres clairs et riches d'exemples, les grandes idées maîtresses qui se sont dégagées de l'étude des comportements naturels des animaux, dont on sait les répercussions dans tous les domaines de la biologie et de la psychologie, y compris la psychologie humaine.

Le plan en est le suivant :

I. Introduction. Éthologie ou psychologie animale?
II. L'animal et le monde extérieur.
III. Les mécanismes du comportement inné.
IV. Évolution et comportement.
V. Le développement du comportement.
VI. La vie sociale des animaux.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; — *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé:* (250 mots max) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion ;* f) *résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds les dons...; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très *complet*. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (Dupont et Duval, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de et *al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.* ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponible est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés *à l'état de projets*, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 12,5 × 19,5 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12,4 photos 9 × 55, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront une épreuve à corriger.

Envoi du manuscrit : M. Biliotti, Centre national de Recherches agronomiques, 78 - Versailles, France. On demande deux exemplaires.

Zoologie.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1970	France	Étranger	Le N°
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 nos par an	125 F	135 F	25 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOLOGIE - ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 nos par an	75 F	80 F	25 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 nos par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 2 nos par an	42,90 F	42,90 F	21,45 F
ANNALES D'HYDROBIOLOGIE, 2 nos par an	32,24 F	32,24 F	16,12 F

APIDOLOGIE, 4 nos par an — Abonnement : France : 30 F
Étranger sauf R. F. A. : 35 F

— Le numéro : France : 9 F
Étranger sauf R. F. A. : 10 F

PUBLICATIONS NON PÉRIODIQUES

Prix T. T. C.

Recherches d'économie et de sociologie rurales :

N° 1; n° 2; le numéro : ..... **10,77** F
Souscription pour les 4 premiers numéros : ..... **33,66** F

Recherches vétérinaires :

N° 1; n° 2; n° 3; le numéro : ..... **21,45** F

Recherches d'hydrobiologie continentale :

Le n° 1 : ..... **16,12** F

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Recherches sur l'induction expérimentale de naissances gémellaires chez les bovins.

157 p., 1970 ..... **40,00** F

Essai de classification et de nomenclature des virus, par **H. Lapierre et D. Spire.**

110 p., 1969 ..... **35,00** F

Deuxième Congrès de l'Union phytopathologique méditerranéenne, Avignon-Antibes, 21-27 septembre 1969.

470 p., 1969 ..... **90,00** F

Colloque sur les manifestations inflammatoires et tumorales chez les Invertébrés, Versailles, 19 décembre 1967.

134 p., 1969 ..... **40,00** F

Les techniques de mycologie en pathologie végétale, par **F. Rapilly.**

107 p., 1968 ..... **15,00** F

Applications de l'électricité à la biologie et à l'aménagement des Pêches continentales, publié sous la direction de **R. Vibert.**

276 p., 1968 ..... **35,00** F

Les leucoses animales, par **C. Lombard.**

215 p., 1968 ..... **26,84** F

Fermentations et vinifications. IIe symposium international d'œnologie tenu à Bordeaux-Cognac, les 13-17 juin 1967.

656 p., 2 volumes, 1968 ..... **68,00** F

Bases et techniques d'une cartographie des sols, par **M. Jamagne.**

142 p. (dont 3 cartes des sols sous pochette annexe), 1967 ..... **45,00** F

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78 - Versailles.
Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I. N. R. A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U. N. E. S. C. O.
Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.
A Paris, bureau de vente : 11, rue Jean-Nicot, 7e.

TABLE DES MATIÈRES

A. Dalmasso. — Influence directe de quelques facteurs écologiques sur l'activité biologique et la distribution des espèces françaises de la famille des *Longidoridae* (*Nematoda-Dorylaimida*) 163

P. Teulade. — Étude de la radiosensibilité de l'embryon de *Bombyx mori* L. dans ses relations avec la diapause 201

A. Bournier. — Principaux types de dégâts de Thysanoptères sur les plantes cultivées 237

J. Hennequin. — Appréciation des niveaux de résistance de la Mouche de l'Oignon (*Hylemya antiqua* meig.) aux insecticides organochlorés 261

G. Catroux, Janine Calvez, P. Ferron, H. Blachère. — Mise au point d'une préparation entomopathogène à base de blastospores de *Beauveria tenella* (delacr.) siemaszko pour la lutte microbiologique contre le Ver blanc (*Melolontha melolontha* L.) 281

S. Hasan, G. Croizier, C. Vago, J.-L. Duthoit. — Infection à virus irisant dans une population naturelle d'*Aedes detritus* haliday en France 295

Chronique des livres 301

CONTENTS

A. Dalmasso. — Direct influence of some ecological factors on the biological activity and the distribution of the french *Longidoridae* species 163

P. Teulade. — Study on the susceptibility to radiation of the *Bombyx mori* L. embryo and its relations with the diapause 201

A. Bournier. — The most important forms of Thysanopteran injuries on cultivated plants. 237

J. Hennequin. — Appreciation of the Onion fly resistance level, according to the organochlorinated insecticides 261

G. Catroux, Janine Calvez, P. Ferron, H. Blachère. — Élaboration of a blastospore preparation of *Beauveria tenella* (delacr.) siemaszko for the microbial control of white grubs 281

S. Hasan, G. Croizier, C. Vago, J.-L. Duthoit. — Infection of an iridescent virus in a natural population of *Aedes detritus* haliday in France 295

Book review 301

Les Annales de Zoologie - Écologie animale figurent dans Current Contents

I. N. 00. 360 16. 5